



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

GENOTOXICIDAD INDUCIDA POR LOS
CONTAMINANTES ATMOSFÉRICOS PRESENTES
EN EL PARQUE NACIONAL IZTA-POPO Y EN LA
DELEGACIÓN COYOACÁN EVALUADA EN DOS
PLANTAS SILVESTRES *Senecio roseus* (KLATT) Y
Gnaphalium lavandulifolium (WILLD)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

JANET RENTERÍA GARCÍA



DIRECTORA DE TESIS:

DRA. JOSEFINA CORTÉS ESLAVA

2017

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos del alumno

Rentería

García

Janet

5584482674

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

2. Datos del tutor

Dra.

Josefina

Cortés

Eslava

3. Datos del sinodal 1

Dra.

Sandra Luz

Gómez

Arroyo

4. Datos del sinodal 2

Dra.

Adriana

Muñoz

Hernández

5. Datos del sinodal 3

Dr.

Pedro Rafael

Valencia

Quintana

6. Datos del sinodal 4

M. en C.

Ana Rosa

Flores

Márquez

7. Datos de la tesis

Genotoxicidad inducida por los contaminantes atmosféricos presentes en el parque nacional izta-popo y en la Delegación Coyoacán evaluada en dos plantas silvestres *Senecio roseus* (Klatt) y *Gnaphalium lavandulifolium* (Willd)

80p.

2017

Palabras clave: Genotoxicidad, ensayo cometa, biomonitores, contaminación atmosférica.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primer lugar a mi tutora, la Dra. Josefina Cortés Eslava, por el apoyo brindado para realizar mi tesis, por compartir sus conocimientos, por su paciencia y sobre todo por su solidaridad.

A la Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo por las sugerencias para perfeccionar mi tesis, por aceptarme en el Laboratorio de Genotoxicología Ambiental que dirige y por sus consejos personales.

Agradezco a mi jurado por el tiempo dedicado a la revisión de mi trabajo y por las aportaciones para mejorarlo.

A mis compañeros del Centro de Ciencias de la Atmósfera por su compañerismo, su apoyo y sus consejos como amigos, en especial a Laura Martínez.

Agradezco el financiamiento del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), DGAPA, UNAM por la beca otorgada para Licenciatura /conclusión de estudios, dentro del proyecto IN-225114.

Agradezco al Centro de Ciencias de la Atmósfera por la Beca de Apoyo para Titulación y Obtención de Grado mediante un Fondo Especial de Ingresos Extraordinarios 2017.

Al Centro de Ciencias de la Atmósfera y a su equipo de trabajo por permitirme utilizar sus instalaciones y por el profesionalismo de sus investigadores para realizar mi tesis.

Agradezco al Parque Nacional Izta-Popo y al grupo de trabajo del Dr. Michel Grutter de la Mora.

Y finalmente a la Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM.

Dedicatoria

Dedico todo este trabajo para mi familia quien me dió la fuerza para seguir en este camino. A ti mamá por nunca dejarte caer y enseñarme a ser una mujer independiente, a ti papá por ser cómplice de mis decisiones y por tus consejos.

A mi hermana por hacer de mi vida un lugar más feliz y a mis abuelos por motivarme a realizar esta profesión.

A mis amigos que me acompañaron durante la carrera (Charly, David, Jesús, Pedro, Laura, Raziél y Liz).

A mi amiga del alma Stephanie Galindo Soto por su amistad incondicional en los momentos buenos y malos.

Esto es un gran logro, pero solo un paso más de una vida con metas por seguir.

No sabía qué era un protón, o una proteína, no distinguía un quark de un cuáasar, no entendía cómo podían mirar los geólogos un estrato rocoso, o la pared de un cañón, y decirte lo viejo que era..., no sabía nada, en realidad. Me sentí poseído por un ansia tranquila, insólita, pero insistente, de saber un poco de aquellas cuestiones y de entender sobre todo cómo llegaba la gente a saberlas. Eso era lo que más me asombraba: cómo descubrían las cosas los científicos (Bryson, 2004).

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	2
II. ANTECEDENTES	5
1. Fuentes de contaminación	5
2. Factores de distribución de contaminantes atmosféricos	6
3. Contaminación atmosférica en la Ciudad de México	7
4. Clasificación de los contaminantes atmosféricos	9
4.1 Contaminantes primarios	9
4.1.1 Monóxido de carbono (CO).....	9
4.1.2 Dióxido de azufre (SO ₂).....	10
4.1.3 Compuestos de nitrógeno	11
4.1.4 Dióxido de nitrógeno (NO ₂).....	12
4.1.5 Material particulado	12
4.2 Contaminantes secundarios	13
4.2.1 Ozono (O ₃).....	13
5. Efectos de la contaminación del aire en plantas silvestres	15
6. Plantas silvestres como biomonitores de contaminantes atmosféricos	18
6.1. <i>Senecio roseus</i> (Klatt, 1894)	20
6.2 <i>Gnaphalium lavandulifolium</i> (Willd, 1803)	20
7. Ensayo cometa en plantas para monitorear la contaminación del aire	20
7.1 Historia	21
7.2 Fundamento teórico	22
7.3 Ventajas y debilidades.....	25
7.4 Variantes del ensayo cometa	26
III. JUSTIFICACIÓN	27
IV. OBJETIVO GENERAL	28
V. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
VI. HIPÓTESIS	29
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	30
1. Áreas de estudio	30
2. Exposición	30
3. Ensayo cometa	31
3.1 Aislamiento de núcleos	31
3.2 Lisis	31
3.3 Electroforesis	31
3.4 Neutralización	32

3.5 Fijación y tinción.....	32
3.6 Registro y análisis estadístico.....	32
VIII. RESULTADOS	33
IX. DISCUSIÓN	35
X. CONCLUSIONES	44
XI. PERSPECTIVAS	45
XII. REFERENCIAS	46
XIII. ANEXOS	59
Figura 1.....	60
Figura 2.....	60
Figura 3.....	61
Figura 4.....	62
Figura 5.....	63
Figura 6.....	63
Figura 7.....	64
Figura 8.....	65
Figura 9.....	65
Figura 10.....	66
Figura 11.....	67
Figura 12.....	68
Figura 13.....	68
Figura 14.....	69
Figura 15.....	69
Figura 16.....	70
Figura 17.....	71
Figura 18.....	72
Figura 19.....	73
Figura 20.....	74
Figura 21.....	75
Figura 22.....	76
Figura 23.....	77
Figura 24.....	78
Figura 25.....	79
Figura 26.....	80

RESUMEN

Los contaminantes atmosféricos se han incrementado en distintas zonas de la República Mexicana, particularmente en la Ciudad de México, tal crecimiento es una de las mayores problemáticas, su ubicación a 2,240 msnm y su orografía, rodeada de cadenas montañosas, aunado a la radiación solar y las inversiones térmicas, impiden la circulación del aire y su distribución. Esta situación agrava las condiciones ambientales y perjudica la salud de los seres vivos. Sin embargo, la información de los efectos sinérgicos o antagónicos de diversos contaminantes sobre los organismos es escasa, por esto se planteó el uso de dos plantas silvestres (*Senecio roseus* y *Gnaphalium lavandulifolium*) como biomonitores del efecto genotóxico de la contaminación del aire. Por otra parte, se utilizó el ensayo cometa en su versión alcalina porque es una prueba que permite detectar rompimientos de cadena sencilla y sitios sensibles a la alcalinidad por una amplia variedad de condiciones adversas y es empleada en investigaciones ecotoxicológicas. Para realizar el ensayo cometa se colectaron las plantas cada dos semanas y se cortaron sus hojas para observar el daño en el DNA provocado por la contaminación atmosférica, durante la temporada de secas y de lluvias. La temporada de secas abarcó desde el 21 de enero hasta 11 de mayo y la de lluvias comenzó a partir del 26 de mayo hasta el 30 de septiembre del 2016. Las plantas se expusieron en dos estaciones meteorológicas, en una zona rural ubicada en el Parque Nacional Ixta-Popo: Altzomoni (ALTZ) y en una zona urbana ubicada en Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán: Centro de Ciencias de la Atmósfera (CCA). Los resultados mostraron un mayor daño genético en ambas especies en la temporada de secas 2016, esto coincide con las altas concentraciones de CO, NO, NO₂, NO_x, SO₂, O₃, PM₁₀ y PM_{2.5} reportadas en la página oficial de la Dirección de Monitoreo de Contaminación Atmosférica, por otro lado se observó una diferencia en la sensibilidad entre ambas especies, por lo que posiblemente cada una se adapta de distintas formas y reacciona con diversos mecanismos de protección ante la contaminación atmosférica. No obstante ambas pueden ser propuestas como organismos centinela.

I. INTRODUCCIÓN

La Ciudad de México se encuentra ubicada a 2,240 msnm. Tiene una extensión aproximada de 7,860 km². Es una cuenca rodeada por altas montañas con una topografía compleja y efectos meteorológicos adversos, como la recurrencia de inversiones térmicas que evitan el flujo del aire (Téllez et al., 1997).

Está catalogada como una de las ciudades más grandes del mundo, con alta densidad poblacional, que requiere diversos servicios, tanto industriales como de transporte, generando grandes emisiones de contaminantes, que son liberados a la atmósfera (Molina y Molina 2012).

Gran parte de la contaminación del aire es formada en las zonas del norte de la Ciudad y del Estado de México, sin embargo, los vientos van de norte a sur acumulándose en la parte sur de la Ciudad, siendo las Delegaciones más afectadas Coyoacán y Tlalpan, otra fuente de contaminación son los automóviles particulares, de transporte público y motocicletas que cada año aumentan (INEGI, 2017). (Figura 1).

Los contaminantes forman parte de la atmósfera y su distribución y composición se deben a las interacciones químicas, meteorológicas y biológicas en la tropósfera, por sus propiedades fisicoquímicas, son nocivos a la salud de los seres vivos (Kamba y Castanas, 2008; Katsouyanni, 2003).

Los contaminantes gaseosos son óxidos de carbono, entre los que están el CO y el CO₂, compuestos de azufre, en los que destaca el dióxido de azufre (SO₂), compuestos que contienen nitrógeno como los óxidos de nitrógeno (NO_x), los compuestos orgánicos volátiles (COVs), los nitratos de peroxiacilo (PANs), el ozono (O₃) y los particulados que son catalogados por su tamaño en material particulado menor a 10 micrómetros (por sus siglas en inglés PM 10 µm) y menor

a 2.5 micrómetros (PM 2.5 μm), partículas finas y partículas ultra finas (SEMARNAT, 2013). (Figura 2).

Los riesgos a la salud por exposición a este tipo de contaminantes son diversos. El CO es altamente tóxico, ya que tiene afinidad por la hemoglobina y evita la captación de oxígeno (Gómez y Danglot 1998), el NO₂ y el SO₂ están relacionados con enfermedades cardiovasculares y respiratorias (Sánchez et al., 1999; Zhang et al., 2011), mientras que el O₃ provoca daños más graves como inflamación pulmonar, supresión del sistema inmunológico, cambios en la estructura, función y metabolismo de los pulmones, así como efectos en órganos distantes al pulmón (Escobedo et al., 2010).

En organismos vegetales se han reportado necrosis, decoloración de hojas, disminución del crecimiento e inhibición de la fotosíntesis (Rai et al., 2011). Los contaminantes que más afectan al desarrollo de las plantas son el O₃ y el SO₂ (Heath, 1999) sus consecuencias depende de la especie, la edad, los factores meteorológicos y el tiempo de exposición (Pardos, 2006).

Con el propósito de prevenir el deterioro ambiental de los contaminantes ambientales, éstos deben ser evaluados mediante pruebas ecotoxicológicas. Estas pruebas incluyen especies de diferentes niveles de organización, como procariontes y eucariontes. A estos organismos se les ha llegado a conocer como organismos centinela o bioindicadores (García y Rubiano 1984).

Un organismo se considera bioindicador cuando presenta alguna reacción que puede ser identificada frente a diferentes grados de alteración del medio, por ejemplo frente a la contaminación del aire. Muchas especies son incapaces de adaptarse ecológica o genéticamente a la condición ambiental alterada, de modo que su ausencia es, de hecho, un indicio del problema. Su comportamiento ante dichas condiciones difiere del natural en aspectos tales como hábito, fisiología, demografía y relaciones con otros organismos (García y Rubiano 1984).

Se conocen numerosos organismos que pueden ser utilizados como bioindicadores; se incluyen especies de plantas vasculares, briofitas, algas, líquenes, hongos, animales invertebrados y animales vertebrados. En el caso de la contaminación atmosférica, se consideran mejores bioindicadores aquellos organismos que presentan sensibilidad a los contaminantes aéreos, una amplia distribución en el territorio de estudio y una gran longevidad (Ariño et al., 1997).

Las pruebas encaminadas al monitoreo de contaminantes que afectan a otros organismos del ecosistema son de gran importancia, ya que pueden servir como base científica para la elaboración de nuevas normas y legislaciones que establezcan la reducción de emisiones de aerosoles, metales pesados, disolventes, gases, partículas, etc. que dañan el ambiente (Grant, 1994).

Los bioensayos *in situ* son técnicas determinantes de la toxicidad aplicadas o diseñadas para su uso en condiciones reales fuera del control del laboratorio. Un número de plantas y animales domésticos y silvestres, se usan *in situ* para medir y monitorizar la mutagénesis, carcinogénesis y otros biomarcadores; por ejemplo, el crecimiento, la fijación de nitrógeno, la excreción de ácido δ -aminolevulínico urinario, anomalías de las células, daños en el DNA etc. (Lower et al., 1990).

Para la evaluación del daño al DNA se utiliza varias pruebas como el intercambio de cromátidas hermanas, micronúcleos, aberraciones cromosómica o ensayo cometa, (Ramakrishnan et al., 2011; Zuñiga et al., 2007) no obstante, éste es de los más empleados, por caracterizarse por ser una técnica de fluorescencia rápida, sencilla, de fácil aplicación, sensible para detectar rompimientos en una o en las dos cadenas del DNA, sitios sensibles a la alcalinidad, enlaces cruzados (proteína-DNA, DNA-DNA) (Rojas et al., 1999).

II. ANTECEDENTES

La contaminación atmosférica se refiere a cualquier alteración de las condiciones de la atmósfera por la presencia de sustancias que pueden causar daño a los seres humanos, animales, vegetación y materiales (Buell et al., 2003). Esta es caracterizada por la mezcla de partículas y aerosoles, las cuales son la causa de enfermedades graves (IARC, 2013). La mayoría de los daños a la salud se atribuyen a las emisiones de los vehículos (Nikic et al., 2005).

Los efectos a la salud comúnmente reportados en vías respiratorias son: bronquitis, deficiencia pulmonar, asma, neumonía, irritación del tracto respiratorio y aumento de infecciones. En el sistema cardiovascular se reporta aumento de mortalidad, influencia en arritmias e infartos (Brunekreef y Holgate 2002; Rosales et al., 2001; Zhang et al., 2011), según la Organización Panamericana de la Salud en 2005 cerca del 3% de las muertes por enfermedades cardiovasculares se atribuye a la exposición a material particulado, el cual también favorece al desarrollo de cáncer de pulmón (American Lung Association, 2001; Arrieta et al., 2013; Cohen et al., 1997). Los efectos de la mala calidad atmosférica son superiores a otros factores ambientales (Hollander et al., 1999).

La exposición continua a la contaminación atmosférica, presenta un problema económico para los países más urbanizados. Por ejemplo, en Brasil para el 2011, se reportaron 900,000 hospitalizaciones por neumonía y por asma, lo que equivale al gasto de 350 millones de dólares (Chaves et al., 2017).

1. Fuentes de contaminación

Convencionalmente los contaminantes atmosféricos pueden ser de origen natural o antropogénico. En 2013 SEMARNAT, SEDEMA y la Dirección de Monitoreo Atmosférico de la Ciudad de México, dividen las fuentes en 5 grupos: naturales, de tipo área, fijas, móviles de carretera y móviles no circulantes en carretera.

Las naturales son producto de fumarolas volcánicas que liberan gases, vapores, polvos y aerosoles, incendios forestales, erosión de suelo, etc. Las antropogénicas comprenden las fijas, las móviles de carretera, las móviles no circulantes en carretera y las de tipo área. Las primeras incluyen a las empresas, mientras que las móviles comprenden a los autos particulares, transporte público y motocicletas (Téllez et al., 1997). Las fuentes de tipo área, incluyen: combustión agrícola y doméstica, artes gráficas, asfaltado, disolventes de uso doméstico, actividades de construcción, asados al carbón, panificación, agrícolas (fertilizantes, plaguicidas, quemas), ganaderas, labranza, aguas residuales e incendios de construcciones (SEMARNAT, 2012).

En los reportes de SEMARNAT, 2012 y 2013, se muestra que los automóviles de carretera son los principales causantes de originar partículas y participan directa e indirectamente en la formación de contaminantes secundarios (Machado et al., 2008). Desde 2000 hasta finales de 2012 el parque vehicular ha aumentado más del doble (INEGI, 2017). Los contaminantes emitidos por los transportes son: el dióxido y monóxido de carbono, hidrocarburos poliaromáticos, hidrocarburos ligeros, aldehídos, óxidos de nitrógeno y partículas en suspensión (Jiménez, 2001).

2. Factores de distribución de contaminantes atmosféricos

El modelo de distribución está constituido por la fuente de contaminación, el tipo de contaminante y el receptor. Es importante conocer la tasa de emisión (que es la cantidad de gases o material particulado de origen antropogénico o natural vertidos al aire), las interacciones físicas y químicas que ocurren en la atmósfera y la inmisión que tiene el receptor, es decir, la cantidad de estos contaminantes que alcanza un organismo, las cuales pueden inferirse por las características del propio contaminante, como su peso, tamaño y composición química, así como las condiciones meteorológicas que cambian constantemente tanto temporal como

espacial, debido a la velocidad del viento, la temperatura, la insolación y la humedad (Munive, 2009).

Las condiciones meteorológicas determinan el movimiento de las masas de aire, impidiendo o facilitando la dispersión de los contaminantes. Por ejemplo la temperatura influye en las corrientes de aire estabilizando a la atmósfera. La radiación UV favorece las reacciones entre contaminantes primarios originando otros más peligrosos (SEMARNAT, 2013). Estas condiciones meteorológicas también ocasionan otro fenómeno perjudicial en zonas altamente pobladas, las inversiones térmicas, las cuales son importantes para entender la duración y la concentración de la contaminación en la atmósfera (Munive, 2009). (Figura 3).

Las inversiones térmicas acumulan los contaminantes cerca del suelo y provocan una densa capa sobre la ciudad, que limita la visibilidad (SEDEMA, 2010). Por el contrario la lluvia precipita los gases y partículas de la atmósfera (Munive, 2009), dispersan la contaminación y la depositan a varios kilómetros del sitio donde se generó. Por otro lado, las características geográficas afectan en la difusión de éstos, por ejemplo, las montañas son barreras que impide el paso del aire provocando la acumulación de los contaminantes. Aunado a esto las zonas urbanas por pérdida de superficie arbórea son islas de calor que limitan la velocidad del aire generando turbulencias que contribuyen a la concentración de la contaminación en estos lugares (SEDEMA, 2010).

3. Contaminación atmosférica en la Ciudad de México

La Ciudad de México se encuentra a 2,240 msnm, tiene una extensión aproximada de 7,860 km² y está rodeada por cadenas montañosas (Téllez et al., 1997), ejemplo de ello son el Cerro de la Estrella, Cerro del Ajusco, el Cerro del Chiquihuite por mencionar algunos, estas características geográficas provocan la acumulación de contaminantes en la cuenca (SEMARNAT e INEGI 2008).

La cantidad de lluvia se concentra del 80 a 94% en el período comprendido entre mayo y octubre y el lapso restante es seco (Calderón y Rzendowski 2005).

La zona metropolitana recibe 25% más de radiación UV que otros lugares a nivel del mar y por su altitud tiene una constante cantidad de radiación solar. Por otra parte, la velocidad de los vientos es, en promedio de 1.5 m/s y circula de norte a sur (SEDEMA, 2010). En estas condiciones, la dispersión de contaminantes generados en la Ciudad, es básicamente nula, por el escaso viento horizontal y falta de movimiento vertical, que generan las inversiones térmicas (Jiménez, 2001).

Las inversiones térmicas se presentan en todo el año, siendo mayor su intensidad y número en los últimos días de otoño, en invierno y al inicio de la primavera (Jiménez, 2001). Durante estos eventos se pueden alcanzar niveles de contaminación ambiental dañinos para la salud humana (Ezcurra, 1991).

Los índices de la calidad del aire varían dependiendo de la época del año. Durante la temporada de lluvias, que abarca desde mediados de mayo hasta octubre las nubes inhiben reacciones provocadas por la absorción de radiación ultravioleta (Calderón y Rzendowski 2005), junto con esto el agua de la lluvia remueve muchos contaminantes, de modo que en esta temporada son menores la concentración de O₃ y de otras emisiones (SEMARNAT e INEGI 2008), mientras que los niveles más elevados de contaminación ambiental se encuentran de noviembre a marzo (Téllez et al., 1997). Por tanto la distribución temporal de los contaminantes en la Ciudad de México presenta una conducta estable: mayores concentraciones en la temporada seca y menores durante la temporada de lluvia (SEDEMA, 2010).

Para monitorear los principales contaminantes de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México, en 1986 empezó a funcionar la Red Automática de Monitoreo ambiental (RAMA), con 25 estaciones meteorológicas en el noroeste, noreste, suroeste, sureste y zona centro de la zona metropolitana generando el Índice Metropolitano de la Calidad del Aire (IMECA) (Gómez y Danglot 1998). El IMECA es un valor de referencia que permite conocer el estado de contaminación

atmosférica en una zona, día y hora para así determinar si constituye un riesgo para la salud de la población (Trejo, 2006). Legislado por normas propuestas por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para prevenir los efectos de la contaminación (Manzur, 2012). Los contaminantes atmosféricos se expresan como unidades en partes por millón (ppm), en partes por billón (ppb) o microgramos por metro cúbico ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) (SEMARNAP, 2000).

4. Clasificación de los contaminantes atmosféricos

Los contaminantes se clasifican en primarios y secundarios. Los primarios son los que se emiten directamente de la fuente y los secundarios son el resultado de las reacciones fotoquímicas de los contaminantes primarios con otros gases, hidrocarburos u otros compuestos del aire, generados de forma natural o por acción antropogénica (Organización Panamericana de la Salud, 2005). Este tipo de reacciones son beneficiadas por altas temperaturas y radiación solar, produciendo ozono y “smog” fotoquímico (Munive, 2009). Por lo anterior, la concentración de contaminantes primarios es más alta en zonas industriales o lugares con mayor parque vehicular, mientras que los secundarios es más elevada en regiones viento abajo de las fuentes de emisión (SEDEMA, 2010).

A su vez por sus características físicas los contaminantes se dividen en gases (conformados por compuestos derivados de carbono, azufre, nitrógeno) y material particulado. Este último es clasificado de acuerdo a su tamaño de PM_{10} , $\text{PM}_{2.5}$, fino y ultra fino (Munive, 2009).

4.1 Contaminantes primarios

4.1.1 Monóxido de carbono (CO)

El monóxido de carbono es el contaminante más abundante en la capa inferior de la atmósfera, sobre todo en las grandes ciudades. Su formación se debe a la combustión incompleta del carbono, por oxidación atmosférica del metano (CH_4) y

por procesos de producción y degradación de la clorofila en las plantas (Carnicer, 2008). Cuando el monóxido de carbono es liberado al ambiente, permanece en la atmósfera por un promedio de aproximadamente 2 meses. Eventualmente, el monóxido de carbono reacciona con otros compuestos en la atmósfera y se convierte en dióxido de carbono (Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU, 2012). Este gas contribuye raramente a la formación de O₃ y es considerado un gas menor de efecto invernadero (SEDEMA, 2015).

Anualmente en la Ciudad de México se emiten por parte de los vehículos 696,288 toneladas que corresponde al 96% de la emisión total (SEDEMA, 2015).

Cuando se respira el CO entra y llega a todas las partes del cuerpo, sangre, músculo, cerebro y corazón pero no sale rápidamente, sino que, puede tardar hasta un día entero para que sea expulsado mediante la exhalación. Su daño se debe por tener afinidad a la hemoglobina y reemplazar al oxígeno, en consecuencia hay una disminución de entrega de este último para los tejidos (Diario Oficial de la Federación, 1994a). Respirar constantemente monóxido de carbono puede causar daño permanente en cerebro y corazón (Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU, 2012).

La exposición a concentraciones de 3.0 ppm por una hora puede ocasionar dolores de cabeza y a 7.0 ppm con la misma duración puede provocar hasta la muerte (SEDEMA, 2015), su concentración no debe rebasar el valor permisible de 11.00 ppm equivalente a 12,595 µg/m³ en promedio móvil de ocho horas una vez al año, como protección (Diario de la Federación Oficial, 1994a).

4.1.2 Dióxido de azufre (SO₂)

El dióxido de azufre se forma por la oxidación del azufre a consecuencia de la quema de combustibles fósiles por la industria y los vehículos. Naturalmente se encuentra en las fumarolas volcánicas (SEDEMA, 2015). En el informe 2010 expuesto por la Secretaría del Medio Ambiente se registraron 4,500 toneladas de este contaminante (SEDEMA, 2010).

El SO₂ junto con las partículas de PM 10 µm son las responsables de hospitalizaciones de pacientes con asma y neumonía (Chaves et al., 2017). Esta mezcla SO₂/PM₁₀, cuando se acumula y permanece en la atmósfera, es el causante de episodios poblacionales de mortalidad en diferentes partes del mundo y del incremento en la morbilidad relacionados con padecimientos crónicos del corazón y vías respiratorias superiores (Diario Oficial de la Federación, 2010). Mientras que mezclado con el CO son irritantes del aparato respiratorio y por si solo decrece la función pulmonar (Negrisoli y Nascimiento 2013).

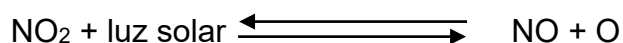
Los niños menores de 10 años son los más perjudicados porque sus vías respiratorias son más estrechas en comparación con las de los adultos, en consecuencia sufren una mayor exposición tisular por unidad de aire inhalado, incrementando el riesgo de inflamación (Díaz et al., 2004), su concentración no debe rebasar el límite máximo normado de 288 µg/m³ o 0,110 ppm promedio en 24 horas (Diario Oficial de la Federación, 2010).

4.1.3 Compuestos de nitrógeno

Incluyen el óxido nítrico (NO), el dióxido de nitrógeno (NO₂) y juntos forman los denominados óxidos de nitrógeno (NO_x). Se producen por la quema de combustibles en plantas eléctricas y en los escapes de los automóviles. Durante el 2016 se emitieron 138,454 toneladas de las cuales el 78% fueron generados por los vehículos (SEDEMA, 2015). El NO se forma en una reacción similar a lo que ocurre en la atmósfera durante las tormentas eléctricas, donde el nitrógeno y el oxígeno se combinan en las cámaras de combustión.



El oxígeno de la atmósfera oxida el NO a NO₂.



4.1.4 Dióxido de nitrógeno (NO₂)

La mayor parte del NO₂ atmosférico se emite en forma de NO, que se oxida rápidamente a NO₂ por acción del O₃ (OMS, 2005). El NO₂ es esencial para el smog fotoquímico, porque absorbe un fotón de la luz solar y se descompone en óxido nítrico y átomos de oxígeno reactivos, estos a su vez reaccionan con otros contaminantes emitidos por los automóviles produciendo otras sustancias irritantes y tóxicas (William y Kolb 1999).

El NO₂ está relacionado con el incremento de enfermedades respiratorias, así como a la susceptibilidad de contraer infecciones (Kampa et al., 2008), la exposición a concentraciones de hasta 80 ppb puede producir dolor de garganta. A exposiciones mayores de 300 ppb puede provocar una reducción pulmonar de hasta el 10% (SEDEMA, 2015), también causa alergias y genera en los pulmones especies reactivas (Sierra y Terán 2012), su concentración no debe rebasar el límite máximo normado de 0.21 ppm equivalente a 395 µg/m³ por 24 horas (Diario Oficial de la Federación 1994b).

Altera la respuesta de las células polimorfonucleares, macrófagos alveolares y linfocitos en el proceso inflamatorio, agravando los casos de bronquitis (Diario Oficial de la Federación 1994b). Los NO_x están relacionados con aumento de mortalidad por enfermedades cardiovasculares (Zhang et al., 2011).

4.1.5 Material particulado

Está catalogado en partículas menores a 10 µm (PM₁₀), partículas menores a 2.5 µm (PM_{2.5}), partículas finas y ultra finas. Es una mezcla de metales pesados, aerosoles e hidrocarburos. El tamaño de las partículas determina el sitio en el tracto respiratorio: las partículas de PM₁₀ se depositan en el tracto respiratorio superior y las partículas finas y ultra finas pueden llegar hasta los alvéolos (Kampa y Castanas 2008). Provoca irritación en los ojos, y su inhalación, tos seca o con flemas, sinusitis, dolor al respirar y deficiencia pulmonar (Rosales et al., 2001). La

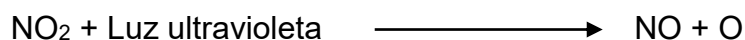
exposición prolongada puede producir efectos mutagénicos, carcinogénicos y la muerte (Villalobos et al., 1998). El límite máximo de PM_{10} es de $75 \mu\text{g}/\text{m}^3$, y el de $PM_{2.5}$ es de $45 \mu\text{g}/\text{m}^3$ diario (Diario de la Federación 2013).

4.2 Contaminantes secundarios

Son producto de las interacciones químicas de los contaminantes primarios, siendo el más importante el O_3 .

4.2.1 Ozono (O_3)

El O_3 en la baja tropósfera es un problema de salud (Krupa y Manning 1988) y se considera como un contaminante secundario porque se forma por una reacción fotoquímica entre óxidos de nitrógeno (NO_x), compuestos orgánicos volátiles (COVs) o hidrocarburos (HCs) en presencia de la radiación solar, sumados a las condiciones geográficas, climatológicas y meteorológicas del ambiente (Diario Oficial de la Federación, 2014).



Los átomos de oxígeno reaccionan con moléculas de oxígeno, para producir ozono:



(Solaz, 2001).

La presencia del O_3 en la atmósfera depende de sus precursores y las condiciones del ambiente. Sus concentraciones se elevan cuando hay mayor temperatura durante el día y decae en la noche, debido a la ausencia de radiación solar, la cantidad de ozono disminuye por depósito en el suelo, en la vegetación, o por degradación mediante reacciones químicas (Solaz, 2001).

De acuerdo al Inventario Nacional de Emisiones de México 2008, la generación de O_3 por emisiones de fuentes móviles es de 24.08%, por fuentes fijas de 3.73%, por fuentes de área de 16.36% y por fuentes naturales un 55.82% (Diario Oficial de la

Federación, 2014), sin embargo, se ha demostrado mediante técnicas de modelado que la contaminación por O₃ en la Ciudad de México tiene su origen en Toluca y Morelos (García et al., 2009).

El O₃ provoca conjuntivitis, junto con lagrimeo, cuadros de tos con irritación nasal, dificultad respiratoria y espasmos bronquiales debido a que destruye las paredes bronquiales y alveolares (Oyarzún, 2010; Solaz, 2001). En países desarrollados se ha encontrado que incluso a concentraciones por debajo del límite permitido aproximado a 120 ppb en volumen, puede causar graves problemas respiratorios (Solaz, 2001).

Según la OMS (2005) la mortalidad puede aumentar de 5 a 9% por exposición prolongada a altas concentraciones y un 0.69% se eleva en pacientes con problemas cardiovasculares y respiratorios (Swanson y Chapman 2017). Aunque en sitios muy contaminados como la ciudad de Los Ángeles los habitantes tienen cierta tolerancia al O₃, ya que parece que han aumentado mecanismos de defensas como antioxidantes. Sin embargo, las personas con deficiencias en el sistema inmunológico son mucho más sensibles, porque altera la fagocitosis de macrófagos que ayudan a destruir las bacterias y virus (Diario Oficial de la Federación, 2014; Solaz, 2001).

La toxicidad del O₃ se debe a que ataca a los dobles enlaces conjugados y a los grupos sulfhidrilo, en consecuencia, oxida lípidos y proteínas, por tanto destruye estructuras fundamentales como las membranas y las enzimas (Swanson y Chapman 2017). Provoca mutaciones genéticas por inhibición de los mecanismos de reparación del DNA. También los aminoácidos como la cisteína, metionina y triptófano son alterados por la exposición de O₃ en disolución acuosa. En los dos primeros, los grupos sulfhidrilo se oxidan a puentes disulfuro o sulfonato, mientras que en el triptófano se abre el anillo pirrólico. Estos daños afectan la estructura de las proteínas que pueden ser parte del sitio activo de una enzima. Además está involucrado en la formación de radicales peroxilo que pueden excitarse

fotoquímicamente y producir más radicales causando un efecto en cadena amplificando el daño biomolecular y, por ende, la afectación de otros órganos o sistemas, su concentración debe ser menor o igual a 0.095 ppm como promedio horario (Diario Oficial de la Federación, 2014; Solaz, 2001).

Otros gases tóxicos son el metanol, el xileno y el tolueno los cuales están relacionados con mutagénesis y carcinogénesis (SEDEMA, 2010).

5. Efectos de la contaminación del aire en plantas silvestres

Las hojas son las estructuras más susceptibles de una planta a lesiones agudas debido a la abundancia de estomas, que permiten la penetración de los contaminantes (Darrall, 1989). La manera en la que entran es por difusión, su velocidad depende de las propiedades químicas del contaminante (Rai et al., 2011). Para evitar su entrada, las plantas tienen varios mecanismos de defensa que sirven como barreras físicas, por ejemplo; tricomas, cutícula cerosa, epidermis y pared celular. Además, a altas concentraciones de NO_x, SO₂, O₃ y PM son capaces de cerrar los estomas (Darrall, 1989). La primera barrera a la que se enfrentan los contaminantes es la cutícula cerosa (Heath et al., 2009). Sin embargo, la exposición crónica estos logran hacer agujeros o lesiones por los que atraviesan (Kersteins y Lenzian 1989; Pardos, 2016). Las células más expuestas son las epidérmicas, las cuales también llegan a ser destruidas. Una vez dentro de la hoja, los contaminantes pueden quedar en ciertos tejidos o compartimentos celulares donde ocasionen el menor daño al DNA y a los procesos esenciales (Burken, 2003; Tuteja et al., 2009). A nivel celular pueden acumularse en la vacuola o en la pared celular y a nivel de tejido en la epidermis y en los tricomas (Hale et al., 2001). Cuando son secuestrados se unen a quelatos y forman conjugados. Además por producir especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés), se desencadena una respuesta antioxidante por NADPH, quien suministra el poder reductor. Los antioxidantes retarda o previene la oxidación, en los cloroplastos de las plantas, por ejemplo la ferritina, que es una proteína, limita

los pro-oxidantes, mientras que otras protegen las biomoléculas con ayuda del glutatión y el ascorbato (Cárdenas y Pedraza 2006).

Si la exposición es crónica los contaminantes se acumulan en los tejidos y ocasionan toxicidad, tanto directa, por dañar la estructura celular, por ejemplo: causando estrés oxidante debido a las ROS, e indirecta a través de la sustitución de otros nutrientes esenciales (Taiz y Zeiger 2002).

Las ROS provocan pérdida de bases, desaminación de la citosina en uracilo, rupturas de una o dos hebras del DNA, enlaces covalentes entre proteínas y DNA como la unión de una tirosina con una timina. Asimismo, los lipoperóxidos pueden reaccionar con el DNA y modificarlo (Hansberg, 2002; Singh y Tuteja 2010). Los cambios de pH que alteran el funcionamiento de las enzimas y la acumulación de metales provenientes del material particulado que puede unirse a moléculas orgánicas e intercalarse en el DNA, juntos producen mutaciones, aberraciones cromosómicas y alteraciones en la síntesis o reparación del DNA (Navarro et al., 2007; Risom et al., 2005; Tuteja et al., 2009).

El grado de daño depende de la afluencia de contaminantes en las hojas y de la reactividad de sus productos con los constituyentes celulares (Rai et al., 2011). No obstante todos los organismos emplean una amplia variedad de estrategias para revertir, o tolerar la persistencia de daños en el DNA (Rai, 2016). (Figura 4).

Los contaminantes perjudiciales para las plantas son los siguientes:

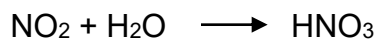
- SO₂

Provoca múltiples daños a las plantas. Reduce el crecimiento, interfiere con diferentes procesos fisiológicos y metabólicos (Rai et al., 2011). En cuanto a los fisiológicos afecta a la fotosíntesis, la actividad estomática y la transpiración (Agrawal y Deepak 2003; 2006; Darrall, 1989). Según Legge y Krupa (2002) debido a los cambios en la permeabilidad de las membranas plasmáticas producidos por el SO₂, este se disuelve al combinarse con el agua de la planta

reduciendo el pH. Por ende, se perjudican las actividades enzimáticas, comprometiendo las funciones metabólicas, la absorción de nutrientes y las relaciones hídricas (Li et al., 2007).

- NO_x

Entran por la apertura estomática y al contacto con las moléculas de agua se forma ácido nítrico HNO₃ y ácido nitroso HNO₂ que acidifican el medio y forman radicales libres que pueden causar lesiones agudas en las hojas de las plantas. En exposición crónica reduce el crecimiento de las plantas.



- O₃

Es fitotóxico, con efectos crónicos, cuya intensidad depende de factores meteorológicos, tiempo de exposición, edad, posición de la hoja y especie, su absorción está regulado por la apertura estomática en las hojas. Al entrar se disuelve en el espacio intercelular produciendo ERO (Baier et al., 2005), que reaccionan con los lípidos, proteínas y bases nitrogenadas formando aductos (Hansberg, 2002). Bioquímicamente suprime la expresión de genes como la transcripción de rubisco, por tanto decae la fotosíntesis y en consecuencia se reduce el crecimiento de raíces, ramas y flores (Musselman et al., 2006; Pardos, 2016). A corto plazo puede decolorar y conducir a necrosis de hojas. En tanto a largo plazo produce cambios en la pigmentación, clorosis y senescencia prematura de hojas y brotes (Bell et al., 2003).

- Material Particulado

Las partículas ultra finas tienen la capacidad de entrar por los estomas, mientras que el material particulado grueso puede llegar a obstruir la apertura de los mismos afectando el intercambio gaseoso y la fotosíntesis (Rai, 2016).

El depósito de polvo en las carreteras y el polvo de cemento contiene altos niveles de MgO y otros metales pesados que al interactuar con la superficie

foliar provocan la degradación de la cutícula (Berminginger et al., 1988), ya que el polvo de cemento al entrar en contacto con el agua de la planta libera hidróxido de calcio que eleva la alcalinidad de la superficie de la hoja, en algunos casos hasta pH 12. Este nivel de alcalinidad puede hidrolizar componentes de lípidos, desnaturalizar proteínas y hasta cloroplastos, en consecuencia la clorofila decae y las hojas pierden sus pigmentos, por lo que el daño se ve reflejado en las coloraciones marrón, amarillo y manchas negras en las hojas (Rai, 2016).

6. Plantas silvestres como biomonitores de contaminantes atmosféricos

Las zonas urbanas con elevada densidad de tráfico se consideran lugares con exposición acumulativa de múltiples contaminantes que aumenta la toxicidad en organismos (Prajapati y Tripathi, 2008).

Las plantas se encuentran en diversos lugares y están expuestas a todo tipo de contaminación ambiental, en consecuencia pueden monitorear una amplia variedad de agentes químicos, físicos, xenobióticos esparcidos en el ambiente ya sea de manera deliberada o accidental y su efecto sobre el DNA puede ser evidenciado por el ensayo cometa (Larcher, 1995; Ventura et al., 2013).

Las plantas pueden utilizarse como sensores estables en los ecosistemas y proporcionar información sobre el impacto genotóxico de los agentes peligrosos, como las mezclas de gases y partículas urbanas en suspensión en la atmósfera. Son altamente sensibles por ser organismos sésiles continuamente expuestos a mezclas de contaminantes en concentraciones altas en comparación con los seres humanos y animales. Las plantas por su eficacia para realizar ensayos *in situ* y ser el eslabón primario de la cadena trófica pueden reemplazar la utilización de animales (Gopalan, 1999).

Las hojas son ideales para fines de biomonitoreo porque tienen la capacidad de almacenar grandes cantidades de éstos (Pilon, 2005; Ventura et al., 2013).

Según Grant (1994) y Valencia et al. (2013), las plantas superiores tienen numerosas ventajas para evaluar y monitorear los contaminantes, antes que perjudiquen la salud humana por ejemplo:

- Las plantas superiores son eucariotas y comparten características con el hombre.
- Llevan a cabo mitosis y meiosis por lo que pueden ser estudiadas sus células somáticas y germinales comparables a los animales.
- Son fáciles de cultivar, de costo moderado y su ciclo de vida es corto tiempo.
- Los ensayos pueden ser llevados a cabo bajo un amplio rango de condiciones ambientales de pH y de temperatura.
- Pueden ser utilizadas para evaluar la genotoxicidad de compuestos solos, sinérgicos y antagónicos.
- Existe un amplio rango de biomarcadores genéticos. Alteraciones citológicas y mutaciones, en plantas completas, hojas, embriones, polen, etc.
- Han sido usadas para el monitoreo *in situ* de contaminantes mutagénicos.
- Diferentes estudios presentan correlación positiva con ensayos citogenéticos con mamíferos.
- Pueden ser combinadas con ensayos microbianos para detectar metabolitos mutagénicos.
- Son muy sensibles en la predicción de carcinogénesis de agentes evaluados.
- Varios cientos de loci genéticos pueden ser monitoreados al mismo tiempo.

Por estas características las plantas silvestres pueden ser consideradas organismos centinela. Como se comentó anteriormente, un centinela se define como aquel organismo que permite evidenciar daños por la exposición continua a corto y largo plazo en su hábitat natural antes de que pueda perjudicar a los seres humanos (Ansoar et al., 2015).

6.1. *Senecio roseus* (Klatt, 1894)

Pertenece a la familia Asteraceae, es una planta herbácea, erecta, de 10 a 50 cm de alto, sus flores son de color púrpura-rojizo distribuidas en cabezuelas, sus tallos son huecos. Tiene hojas basales en forma de roseta, las cuales se van haciendo angostas gradualmente y las hojas de arriba son bractiformes y sésiles.

Se encuentra en laderas de altas montañas a Altitudes de 3,000 - 4,000 m. En bosques de *Pinus hartwegii* con pastizal y en las praderas alpinas y subalpinas. Se ha encontrado en el Nevado de Colima, Nevado de Toluca, la Malinche, Pico de Orizaba, el Cofre de Perote y también en las montañas de Oaxaca (Calderón y Rzendowki 2005). (Figura 5).

6.2 *Gnaphalium lavandulifolium* (Willd, 1803)

Es una planta subarborescente, con demasiadas hojas, en promedio mide de 5 a 25 cm de alto, sus tallos son ramificados, sus hojas tienen forma oblonga, sésiles y amplexicaules que miden 4 a 12 mm de largo y 1 a 3 mm de ancho, con el nervio medio prominente en el envés, contienen pubescencia densamente lanosa en ambas caras de la hoja y cuando mueren permanecen fijas al tallo, la inflorescencia se conforma por fascículos de 1 a 3 cabezuelas.

Esta especie habita en zonas alpinas, se ha encontrado en las faldas del Iztaccíhuatl y del Popocatepetl, a 3,800 y 4,300 m de altitud junto con zacatonal alpino. No obstante también se ha encontrado en el Cofre de Perote, Pico de Orizaba y Nevado de Toluca (Calderón y Rzendowki 2005). (Figura 6).

7. Ensayo cometa en plantas para monitorear la contaminación del aire

La electroforesis unicelular o ensayo cometa evalúa la respuesta de las células frente a agentes genotóxicos (agentes alquilantes o intercalantes), radiación UV, daño oxidante, estrés biótico y abiótico, que conducen a daño al DNA. (Ansoar et al., 2015). Varios estudios recomiendan utilizar el ensayo cometa para observar

rupturas del DNA producidos por los componentes de la contaminación ambiental. (Maluszynska y Juchimiuk 2005; Ventura et al., 2013; Villarini et al., 2009).

El ensayo cometa en plantas puede detectar genotoxicidad por metales pesados, como es el caso del cadmio (Vajpoyee et al., 2006), xenobióticos, contaminación de agua, aire y suelo y también se aplica para la biorremediación (Ventura, 2013). Dado el aumento en los contaminantes atmosféricos, se ha utilizado para detectar su efecto en las plantas. Sriussadaporn et al. (2003) afirma que las plantas silvestres cercanas a carreteras expuestas a NO₂, SO₂, O₃ y otros contaminantes, presentan daño en el DNA, pero el porcentaje difiere, debido a sus adaptaciones al estrés ambiental y su tolerancia.

7.1 Historia

En 1976 Cook et al. Desarrollaron una técnica para investigar y describir la estructura nuclear por medio de detergentes no iónicos y altas concentraciones de cloruro de sodio para lisar membranas, citoplasma y nucleoplasma. Lo que obtuvo fue un nucleoide conformado por una matriz nuclear de DNA, RNA y proteínas, éste se encontró superenrollado negativamente debido a las torsiones de las histonas en los nucleosomas, por lo que el movimiento libre de las cadenas era limitado. (Collins, 2004). En 1978 Rydberg y Johanson encontraron la forma de analizar células individuales, atrapando los núcleos en agarosa con una lisis celular alcalina. Para poder relajar las cadenas superenrolladas de DNA con las que se toparon Cook et al. 1976 utilizaron radiación ionizante y observaron rupturas en el DNA producidas por el relajamiento de las cadenas que formaron un halo alrededor del nucleoide, posteriormente en 1980 el ensayo cometa se describió como método de detección de daño al DNA (Zuñiga, 2009).

En 1984 Östhin y Johanson implementaron microgeles de agarosa, lisaron y sometieron a un campo eléctrico. Los fragmentos de DNA con carga negativa migraron hacia el ánodo y evidenciaron rupturas de cadena doble.

En 1988 Singh et al. describieron una versión de ensayo cometa en condiciones alcalinas de la electroforesis con un pH mayor a 13 en la que se detectaron rupturas de una sola cadena debido a que en estas condiciones las hebras de DNA se desnaturalizan, también observaron sitios álcali lábiles. No obstante en 1989 Olive desarrolló una metodología en condiciones neutras de lisis y electroforesis pero solo pudo detectar daño en las dobles cadenas.

En 1996 Koppen y Verschaeve implementaron la electroforesis unicelular alcalina en raíces de *Vicia faba* para determinar rompimientos de DNA y proponerlo como modelo de genotoxicidad.

7.2 Fundamento teórico

Todavía no hay acuerdo de la formación del cometa por lo que se consideran varias hipótesis debido a que en condiciones neutras se relajan las cadenas de DNA pero quedan sujetas al núcleo, las cuales asemejan lazos unidos, que constituyen el halo, mientras que en condiciones alcalinas se observan fragmentos que migran y forman la cola, esto es evidenciado a través de una electroforesis bidimensional neutra, ya que las colas del cometa migran sólo en la primera etapa mientras que en la segunda permanecen quietos, sin embargo, en condiciones alcalinas, las colas de cometas son capaces de moverse en ambas direcciones de electroforesis, lo que sugiere que el DNA en las colas se encuentra fragmentado y libre para migrar (Klaude et al., 1996).

En el caso de las plantas el aislamiento de los núcleos celulares se debe hacer mecánicamente para lo cual es necesario realizar cortes finos, debido a que éstas tienen pared celular, que dificulta dicho aislamiento se realice por medios químicos y enzimáticos (Gichner et al., 2009). Por lo que se rompe la pared utilizando una navaja fría para mantener la integridad de los núcleos. Después son suspendidos en un amortiguador con pH 7.4 para seguir manteniendo las condiciones fisiológicas óptimas en las que se encontraba y evitar daños. (Ventura et al., 2013).

Posteriormente, estos núcleos se colocan junto con tres capas de agarosa. Las cuales son fundamentales porque son la matriz donde quedan embebidos. En la primera capa se utiliza agarosa punto de fusión normal (NMPA por sus siglas en inglés) y en las otras dos, punto de fusión bajo (LMPA por sus siglas en inglés). La primera se adhiere al portaobjetos y ofrece un soporte, mientras que la segunda sirve para atrapar a los núcleos y la tercera se usa de protección. Cualquier modificación de concentración en la agarosa de las tres capas afectará la migración y la visualización de los cometas, ya que entre más concentrado, el tamaño de la cola se reducirá. En tanto la modificación del volumen en la segunda capa repercutirá en el número de núcleos en el microgel (Zuñiga, 2009).

La solución de lisis que se emplea comúnmente contiene agentes quelantes tales como el EDTA, el cual impide la acción de las DNAasas dependientes de Mg^{2+} (Zárate et al., 2009) y detergentes como el Tritón X-100, un surfactante no iónico que rompe las interacciones entre lípidos-proteínas y entre lípidos de membrana celular y citoplasma. En células vegetales, el objetivo de la solución de lisis es remover las proteínas sobrantes puesto que los núcleos son obtenidos por cortes mecánicos mientras que en células de mamíferos su función es lisar, sin dañar el material genético en ambos casos (Fairbairn et al., 1995; Rojas et al., 1999).

La pre-electroforesis alcalina con pH mayor o igual a 13, ayuda a que las histonas se solubilicen por los altos niveles de sales y el DNA se desenrolle porque la alcalinidad rompe los puentes de hidrógenos entre los pares de bases de la doble hélice (Rodríguez et al., 2016). También permite que la solución de lisis se difunda fuera del agar (Rojas et al., 1999).

Durante la electroforesis con $pH \geq 13$, los sitios sensibles a la alcalinidad se fragmentan, este DNA fragmentado es sometido a la presencia de un campo electromagnético que fluye del cátodo al ánodo. El DNA está compuesto de nucleótidos que a su vez se encuentran conformados por una base nitrogenada (Adenina, Citosina, Timina o Guanina), por una pentosa y un grupo fosfato.

Los grupos fosfatos son los que dan la característica al DNA de tener carga negativa (Lehninger et al., 2009). Cuando se exponen a una electroforesis los fragmentos migran hacia el polo positivo: el ánodo, por los poros del micro-gel de agarosa que se comportan como una red que permite separarlos (Padilla et al., 2011). La migración significativa del ADN, que conduce a la formación del cometa, es posible con un tiempo de electroforesis muy corto (entre 5 a 30 min), sin embargo, el tiempo y el voltaje de la electroforesis depende tanto del tipo celular como el tipo de daño que se desea evaluar (Rojas et al., 1999). La capacidad de los fragmentos de DNA de moverse por acción del voltaje a través de la agarosa depende de la densidad de la misma, el número de rupturas, el tamaño de los fragmentos y las condiciones de la electroforesis (McKelvey et al., 1993).

Después de la electroforesis, se llevan a cabo tres enjuagues con un amortiguador de Tris pH 7.5 con una duración de 5 min cada uno, tiempo suficiente para renaturalizar o enrollar las hebras de DNA sin daños (Ventura et al., 2013). Posteriormente, las muestras son deshidratadas en alcohol para su preservación. La imagen que se puede observar en el microscopio de fluorescencia es semejante a un cometa; la cabeza representa el DNA sin daño, mientras que la cola del mismo es el DNA fragmentado (SEMANART e INEGI, 2008). (Figura 7).

La visualización de los cometas se lleva a cabo en microscopio de fluorescencia, después de teñir con un colorante fluorocromomado de unión al DNA. Existen varios intercalantes, como el bromuro de etidio, el 4,6-diamidino-2-fenilindol, mejor conocido como (DAPI), el yoduro de propidio y el naranja de acridina.

El bromuro de etidio se intercala entre las bases nitrogenadas del DNA y se une mayormente a las cadenas dobles que a las cadenas sencillas (Damián et al., 2013), el DAPI solo se intercala en los surcos menores del DNA, el yoduro de propidio se intercala en las bases nitrogenadas sin preferencia, de forma estequiométrica (Zuñiga, 2009) y el naranja de acridina produce un color rojizo cuando se intercala en cadenas de una sola hebra de DNA, mientras que en las

dobles cadenas muestran un color verde-amarillento. Así los cometas se observan con cabezas verdes con colas rojas (Collins, 2004).

En ocasiones los cometas se observan con cabezas pequeñas o sin cabeza con una cola larga y difusa, las cuales describe Olive y Banath en 1995 como células necróticas o apoptóticas Rundell et al. (2003) mencionan que esto se debe a los fragmentos apoptóticos que migraron durante la electroforesis y los llamó “headbegs”

Algunos investigadores mencionan que la longitud de la cola refleja la cantidad de rupturas en el DNA o núcleo una célula (Singh et al., 1988), sin embargo, otros explican que la intensidad de fluorescencia en la cola es la que representa la frecuencia de rupturas de DNA (Gedik et al., 1992). Por ende se utilizan los dos parámetros (proporcionados mediante programas computacionales de análisis de imagen), el porcentaje de intensidad de fluorescencia de la cola y la longitud desde el centro de la cabeza hasta la cola, el producto de ambos se denomina momento de la cauda o “Tail Moment”. Así el momento de la cauda es utilizado comúnmente para comparar la genotoxicidad entre diferentes grupos y posteriormente realizar el análisis por medio de una prueba estadística para esto se recomienda el conteo de por lo menos 100 núcleos por tratamiento (Collins, 2004; Rodríguez et al., 2016).

Los programas computacionales también miden otros parámetros como la simetría de la cabeza debido a que algunos tratamientos deforman los núcleos como la bleomicina en células particulares (McKelvey et al., 1993).

7.3 Ventajas y debilidades

El ensayo cometa es uno de los más utilizados, ya que ofrece una alta sensibilidad para identificar agentes genotóxicos aún en bajas concentraciones (Zuñiga, 2009), tiene gran reproducibilidad tanto en procedimientos *in vitro* e *in situ*, ofrece resultados cuantitativos y cualitativos (Speit y Hartman, 2002). Requiere muestras

de células extremadamente pequeñas de 1 a 10000, se pueden analizar individualmente, mide rupturas de DNA en cualquier tipo celular, los resultados se pueden obtener en un solo día (McKelvey et al., 1993), se puede combinar con diversas técnicas para detección de otro tipo de daños más específicos, es flexible de acuerdo a las necesidades del investigador y es de bajo costo comparado con otros métodos de genotoxicidad (Rodríguez et al., 2016). Sin embargo la mayor desventaja es la falta de estandarización en la metodología y la interpretación de los resultados (Kimura et al., 2013; Villarini et al., 2009).

7.4 Variantes del ensayo cometa

El ensayo cometa tiene varias modificaciones dependiendo la aplicación y la finalidad de la investigación. La versión neutra propuesta por Olive en 1989, solo evidencia rupturas de doble cadena, en tanto la versión alcalina se pueden observar rupturas de cadena sencilla y sitios sensibles a la alcalinidad, ésta última es la más empleada en el área de toxicología genética y para evaluar la genotoxicidad *in vitro* y/o *in vivo* de varios productos químicos (Rojas et al., 1999). Para poder visualizar enlaces cruzados de DNA–DNA y DNA–Proteínas se necesita enzimas como la proteínasa K, debido a que solamente se activa cuando hay este tipo de entrecruzamientos, los cuales evitan la migración del DNA en la agarosa independientemente del pH neutro o alcalino. Esta versión es llamada ensayo cometa con proteínasa K (Collins, 2004; Ventura et al., 2013).

Otra versión es la electroforesis unicelular alcalina con la hibridación *in situ* fluorescente (Comet-Fish) que permite detectar enlaces cruzados de DNA-DNA, daños a genes específicos (Horvathova et al., 2004) y localizar secuencias o genes en la cabeza del cometa o en la cola (Santos et al., 1997; Schlormann y Gleis 2012) y para evaluar reparación de daño hay una versión con enzimas, la más utilizada es la endonucleasa III (Ventura et al., 2013).

III. JUSTIFICACIÓN

La Ciudad de México es una de las zonas con mayores problemas de contaminación ambiental en el mundo, la cual causa diversos problemas de salud (Katsouyanni 2003, Molina y Molina 2012, Téllez et al., 1997) y por otra parte el ensayo cometa es utilizado para evaluar daño genotóxico inducido por sustancias presentes en el ambiente, se caracteriza porque se puede observar el efecto dosis-respuesta, inclusive en niveles bajos de sustancias perjudiciales para los organismos vivos (SEMANART e INEGI, 2008). El uso de plantas como indicadores de genotoxicidad ha crecido en los últimos años debido a su gran proporción de biomasa en el planeta, su sensibilidad para responder a periodos de exposición corta o muy larga, a su facilidad de manejo y rentabilidad económica (Grant, 1999; Valencia et al. 2013). En este estudio se utilizaron dos plantas silvestres *Senecio roseus* y *Gnaphalium lavandulifolium*, ya que presentan diversas características útiles como organismos centinelas, porque son fáciles de cultivar, manipular y de bajo costo. Además la observación de sus núcleos es rápida y son sensibles a los cambios en la contaminación atmosférica. El monitoreo de contaminantes atmosféricos con especies silvestres al ser analizadas con el ensayo cometa es de gran importancia y utilidad para plantear nuevas líneas de investigación y para mejorar las normas de calidad del aire en México.

IV. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el daño genotóxico, provocado por los contaminantes atmosféricos presentes en la estación meteorológica Altzomoni (ALTZ) y en el Centro de Ciencias de la Atmósfera (CCA), en *Senecio roseus* y *Gnaphalium lavandulifolium* mediante el ensayo cometa, durante la temporada de secas y de lluvias de 2016.

V. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Comparar el daño al DNA inducido por los contaminantes del aire en ambas especies durante la temporada de secas y la temporada de lluvias.
- b) Analizar la relación de los cambios meteorológicos en ambas zonas, con la distribución de contaminantes ambientales y el daño genotóxico.
- c) Comparar el momento de la cauda en *Senecio roseus* y en *Gnaphalium lavandulifolium*.
- d) Estudiar los mecanismos de entrada de los contaminantes atmosféricos en *Senecio roseus* y *Gnaphalium lavandulifolium*.

VI. HIPÓTESIS

Dado que se ha demostrado que ciertos contaminantes presentes en la atmósfera son genotóxicos para las plantas. Entonces en zonas con diferentes grados de concentración de contaminantes atmosféricos; se espera observar un daño diferencial al DNA en *Senecio roseus* y *Gnaphalium lavandulifolium* expuestas en la estación Altozomoni y Centro de Ciencias de la Atmósfera.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Áreas de estudio

El Parque Nacional Izta-Popo se ubica sobre la Faja Volcánica Transmexicana, se describe por tener bosques de coníferas y por sus características biogeográficas y geológicas, conserva una gran variedad de especies (SEMARNAT y CONAPO, 2013). Se encuentra a orillas del volcán Iztaccíhuatl a 4,000 msnm, ahí se ubica la estación meteorológica Altzomoni (ALTZ), (CENAPRED, 2016). Esta estación se encarga de monitorear contaminantes atmosféricos y evalúa el impacto que tienen las emisiones volcánicas en las atmósfera (SEMARNAT, 2013). (Figura 8).

El Centro de Ciencias de la Atmósfera (CCA) de la Universidad Nacional Autónoma de México se ubica en la Delegación Coyoacán Ciudad de México. Se encuentra a 2,270 msnm a 19.3262 Norte y 99.1761 Oeste, al igual que en la estación Altozomoni, se monitorean los contaminantes atmosféricos cada hora y se colabora con la Red Automática de Monitoreo Atmosférico (RAMA) de la Ciudad de México, para el monitoreo en la Delegación Coyoacán (Figura 9).

2. Exposición

El monitoreo fue dividido en temporada de secas y de lluvias. La primera abarcó del 21 de enero al 18 de marzo del 2016, con una repetición del 30 de marzo al 11 de mayo del 2016. Para la temporada de lluvias el monitoreo comenzó a partir del 24 de mayo al 1 de julio con una repetición del 18 de agosto al 30 de septiembre del 2016 (Figura 9). En cada inicio de temporada se colectaron individuos de *S. roseus* y de *G. lavandulifolium*, las cuales se sembraron en macetas con tierra esterilizada y con delicadeza para evitar daño, estas se mantuvieron en una cámara de crecimiento durante dos semanas para su aclimatación y posteriormente se trasladaron a las estaciones de monitoreo de contaminantes atmosféricos ALTZ, CCA y el testigo se dejó en la cámara de crecimiento bajo condiciones controladas de temperatura a 19 °C, con fotoperiodos de 12 horas de luz y 20% de humedad (Figura 10).

La toma de muestra de las hojas se realizó cada dos semanas (0, 2, 4, 6) con la finalidad de evaluar la actividad genotóxica mediante el ensayo cometa.

3. Ensayo cometa

3.1 Aislamiento de núcleos

Después de la colecta se cortaron las hojas y se lavaron con agua destilada sin dañarlas. Se realizaron de 10 a 12 cortes finos en la vena media de cada hoja en cajas Petri inclinadas con 250 μL de PBS, con pH 7.4 a 4 $^{\circ}\text{C}$, donde se dejaron en reposo 7 min para la obtención de los núcleos. Posteriormente, se tomaron 50 μL de esta suspensión de núcleos en un microtubo con 50 μL de agarosa punto de fusión bajo (LPMA por sus siglas en inglés) al 1%; se mezcló suavemente la suspensión de núcleos con ayuda de una micropipeta, de esta mezcla se extrajeron 80 μL que se colocaron en un cubreobjetos que se adhirió a un portaobjetos precubierto con agarosa de punto de fusión normal (NMPA por sus siglas en inglés) al 1%, se esperó la solidificación de agarosa. Se retiró el cubreobjetos y se colocó una tercera capa con 80 μL de agarosa LPMA al 0.5 %. Ya solidificado se desprendió el cubreobjetos firmemente pero con cuidado (los portaobjetos con la mezcla se solidificaron en placas metálicas colocadas en hieleras a 4 $^{\circ}\text{C}$ y en condiciones de oscuridad para evitar daño al DNA).

3.2 Lisis

Se colocaron las laminillas horizontalmente en cajas con fondo plano, después se vertieron 35 mL de la solución de lisis (NaCl 2.5 M, EDTA 100 mM, Tris 10 mM, NaOH 10 mM, DMSO al 10%, tritón x-100 al 1% y H₂O desionizada) con un pH 10. Se dejó en reposo durante una hora a 4 $^{\circ}\text{C}$ en oscuridad.

3.3 Electroforesis

Se secaron los portaobjetos por la parte posterior y se colocaron en la cámara de electroforesis con 850 mL de amortiguador pH >13 (NaOH 10 300 mM, EDTA 1

mM y H₂O desionizada) a 4 °C en oscuridad. Una vez acomodados se vertieron 150 mL para cubrir todas las laminillas, se dejaron reposar durante 15 minutos, para desenrollar las cadenas de DNA y después se realizó la electroforesis a 25 V y 300 mA, durante 15 minutos.

3.4 Neutralización

Posteriormente, las preparaciones se secaron y se neutralizaron con 3 lavados de solución de Tris 0.4 M a pH 7.5 para enrollar el DNA intacto.

3.5 Fijación y tinción

Los portaobjetos se fijaron en vasos coplin con etanol al 100% por 15 min, en condiciones de oscuridad y temperatura de 4 °C. Después se dejaron secar a temperatura ambiente en una gradilla, protegiéndolos del polvo. Las laminillas se volvieron a humedecer con agua desionizada filtrada y se tiñeron con 50 µL de Bromuro de etidio 0.02 µm/µL, se colocaron en cajas oscuras para evitar el decaimiento del colorante fluorocromomado y para su observación en el microscopio de fluorescencia.

3.6 Registro y análisis estadístico

Se analizaron 50 núcleos por triplicado de cada zona de exposición con el microscopio de fluorescencia, que cuenta con un filtro de excitación de 515 a 560 nm y un filtro barrera de 590 nm, acoplado al programa de análisis de imágenes Comet Assay IV. Los núcleos de *S. roseus* se observaron con un objetivo de 20x y los de *G. lavandulifolium* con un objetivo de 40x, en el cual se consideró el “Olive Tail Moment” o momento de la cauda. Estos se analizaron en el programa GraphPad Prism. Se realizó un análisis de varianza no paramétrica y una prueba de comparación múltiple con el método de Dunnet, con un intervalo de confianza de 95 %. El análisis se realizó en las dos especies silvestres por separado incluyendo los resultados desde el 21 de enero hasta el 30 de septiembre.

VIII. RESULTADOS

Las figuras 12 y 13 muestran los daños nucleares que sufrieron *S. roseus* y *G. lavandulifolium* en la semana 2 de la temporada de secas en las diferentes zonas de exposición; asimismo las figura 14 y 15, muestra los daños nucleares de *S. roseus* y *G. lavandulifolium* en la semana 2 de lluvias.

La figura 16 evidencia el momento de la cauda de *S. roseus* en las temporadas de secas y lluvias expuestas en las estaciones ALTZ, CCA y el grupo testigo y la figura 17, muestra el momento de la cauda de *G. lavadulifolium*. Cada una de las barras expone el promedio del daño genotóxico con su respectivo error estándar y nivel de significancia.

Las figuras 18 a la 24 expresan los promedios diarios de contaminantes gaseosos de las estaciones meteorológicas Altozomoni y Centro de Ciencias de la Atmósfera durante 2016. La figura 18 muestra la fluctuación de monóxido de carbono, CO en ambas estaciones (ALTZ, CCA); las concentraciones se representaron en partículas por millón, los cuales se obtuvieron por absorción de radiación infrarroja con el analizador Thermo Fisher Scientific, modelo 48i. En el CCA, durante el mes de enero se encontraron valores de hasta 1.8 ppm y en los meses de julio a septiembre se observaron los valores más bajos en todo el año 2016. Mientras que en la estación ALTZ las emisiones se mantuvieron en un rango menor a 0.2 ppm.

En las figuras 19, 20 y 21 se observan los valores de NO₂ NO y NO_x. Los cuales fueron registrados por medio de quimioluminiscencia del analizador Thermo Fisher Scientific, modelo 42i, los que son más altos en enero y febrero del 2016 con 70 ppb en el CCA, en tanto en la estación ALTZ los datos fueron menores a 10 ppb en todos los casos.

En la figura 22 se muestra la concentración de O₃, los valores fueron obtenidos mediante el analizador de Ozono Thermo Fisher Scientific, modelo 49i, por el

método de fotometría ultravioleta. El O_3 en el CCA empezó aumentar a mediados de marzo hasta mayo y después disminuyó en junio, no obstante los valores más bajos fueron en el mes de septiembre. Por otro lado, en ALTZ las concentraciones fueron mayores que en la estación CCA durante todo el año y los niveles más altos se presentaron de enero a febrero.

La figura 23 señala la concentración de dióxido de azufre SO_2 , obtenida por medio del Thermo Scientific con fluorescencia. Los resultados muestran que el mes de febrero tuvo los valores más altos, posteriormente disminuyeron en marzo a abril y se mantuvieron en bajas concentraciones hasta principios de julio y durante los meses de agosto y septiembre comenzó a subir nuevamente.

La figura 24 explica la distribución del material particulado con diámetro menor a $2.5 \mu m$ del CCA y el PM_{10} μm de Altzomoni. Los cuales fueron registrados por el muestreador de partículas $10 \mu m$ y muestreador de partículas $2.5 \mu m$ Thermo Scientific por medio de atenuación de radiación beta. El $PM_{2.5}$ fue alto en los meses de enero a febrero, sin embargo las concentraciones mayores se encontraron entre abril y mayo, mientras que en ALTZ el PM_{10} el nivel más alto fue en el mes de abril.

La figura 25 integra todos los contaminantes gaseosos y particulados que se monitorearon en el Centro de Ciencias de la Atmósfera durante 2016, la información se obtuvo en la Dirección de Monitoreo Atmosférico de la Ciudad de México, la distribución espacial y temporal presentó mayor concentración en la temporada de secas, los meses con alto porcentaje de contaminación son enero, febrero, abril y mayo, mientras que en la temporada de lluvias los niveles bajaron hasta septiembre y la figura 26 muestra todos los contaminantes detectados en la estación Altzomoni durante 2016. Los meses de marzo a mayo no se registraron a consecuencia de problemas meteorológicos, sin embargo, los contaminantes con alta concentración fueron el O_3 y el PM_{10} .

IX. DISCUSIÓN

Desde 2002 ha crecido rápidamente el parque vehicular (INEGI, 2017), por ser el principal causante de contaminación ambiental (Nikic y Stankovic 2005), provoca daños a la salud, como alergias, irritación de ojos y enfermedades crónicas como daño pulmonar, problemas cardiovasculares, cáncer y mortalidad (IMCO, 2016; Rosales et al., 2001).

El Instituto Mexicano para la Competitividad en 2016 menciona que del 2015 a 2016 aumentaron en un 12% “los días sucios,” con altos niveles de O₃, NO_x, CO, CO₂, SO₂ y material particulado, por lo que es necesario nuevas investigaciones para entender los riesgos, ya que la contaminación atmosférica igualmente perjudica a las plantas silvestres, arbolado y cultivos de hortalizas, por ende también hay un impacto económico y ecológico (Rossini y Mingorance 2006; Wolterbeek 2002; Zeeshan et al. 2016). Los daños son genéticos, fisiológicos, metabólicos y se puede observar en la morfología, como la decoloración, necrosis y falta de crecimiento hasta la senescencia. Molecularmente inactivan a la enzima rubisco y por tanto la fotosíntesis se reduce. Fisiológicamente, la transpiración y el transporte hídrico se ven perjudicados porque hay cambios de pH y cierre de estomas y en los daños genéticos se afectan los componentes del DNA, producen dímeros de pirimidina, enlaces cruzados, rupturas de la cadena, modificación de las bases, como la alquilación, la oxidación y la delección de las mismas (Tuteja et al., 2001; Tuteja y Tuteja 2001). El daño del DNA puede resultar en el arresto o la inducción de la transcripción y la inducción de vías de transducción de señales que provocan errores de replicación (Britt 1999).

El daño al DNA ocurre cuando se producen ERO, éstas reaccionan con las bases nitrogenadas, generando mutaciones que fragmentan el DNA, los cuales resultan en carcinogénesis, apoptosis y necrosis (Cárdenas y Pedraza 2006; Risom et al., 2005)

Las plantas como mecanismos de defensa pueden quelar los metales pesados, conjugar los gases o sintetizar nuevos productos para minimizar el daño y por último realizar la reparación de daño al DNA (Navarro et al., 2007).

En el presente trabajo se investigó el daño genético mediante la prueba de ensayo cometa en su versión alcalina, ésta es muy popular para observar daños en el DNA (Ersson y Möller 2011), ya que puede detectar la fragmentación del DNA en cadena sencilla y sitios alcali lábiles, por lo que es sensible, fácil, económica y rápida en comparación con otras técnicas (Moller, 2006; Maluszynska y Juchimiuk 2005). El ensayo cometa es utilizado en varias áreas de investigación sin embargo ha tenido auge en el la toxicología en sistemas vegetales, así que se aplicó en plantas silvestres por su sensibilidad al estrés ambiental (Grant, 1999) *Senecio roseus* y *Gnaphalium lavandulifolium*.

El empleo de las plantas como organismos centinelas o bioindicadores de contaminación tiene ventajas y debilidades en la interpretación de resultados, ya que en bajas concentraciones de contaminantes, los sistemas vegetales son factibles porque en ellas pueden acumularse, además se puede observar su relación dosis-respuesta de la mezcla de varios contaminantes y estimar dosis agudas por altas concentraciones en corto tiempo o dosis crónicas de altas concentraciones a largo plazo, no obstante la respuesta es variable de acuerdo a la especie, a consecuencia de los mecanismos metabólicos que tienen (Doley, 2017).

Las plantas silvestres *S. roseus* y *G. lavandulifolium* resultaron factibles en su cuidado, sin embargo para la exposición en ALTZ y CCA se protegieron de la luz directa, para excluir daños por deshidratación o daños por UV. Entre las ventajas de su utilización es su conservación de follaje durante todo el año, se encuentran en poblaciones grandes, son fáciles de cultivar y mantener a comparación de especies caducifolias o especies de características ambientales húmedas como los musgos o helechos.

Los resultados encontrados de daño al DNA en *S. roseus* y *G. lavandulifolium* se relacionaron con las concentraciones de contaminantes monitoreados, sin embargo los cambios meteorológicos en la temporada de secas en las estaciones CCA y ALTZ impidieron obtener datos del daño genético de la semana 6 en ambas especies. Asimismo, se tuvieron problemas con la determinación de los contaminantes atmosféricos registrados en ALTZ, por lo que las semanas 4 y 8 de la temporada de secas no tienen un referente para comparar el daño con los índices de contaminación.

Respecto a los promedios del momento de la cauda de *S. roseus*, en la estación ALTZ, el promedio del momento de la cauda por semana puede estar relacionado con las concentraciones de O₃ y PM₁₀, ya que estos contaminantes están en mayor nivel en esta zona del muestreo en comparación con el CCA, posiblemente por la actividad volcánica y la altitud en la que se encuentra la estación (Figura 22).

Aunque el O₃ fue el único contaminante con mayor proporción en ALTZ, durante 2016, los gases (CO, SO₂, NO, NO₂, NO_x y PM_{2.5}) expuestos en las figuras 15 a 24 son más altos en el CCA y es en enero-febrero donde se observa mayor concentración de éstos. Tales niveles pueden ser los causantes del daño genotóxico en *S. roseus* expuestas en CCA, ya que se observa un promedio de momento de cauda mayor en las plantas de este sitio en esas fechas, en contraste con la estación ALTZ. Por otro lado, al realizar la prueba de comparación múltiple, Dunnet; se obtuvo diferencias significativas en el momento de la cauda en las plantas expuestas en ambas estaciones ALTZ y CCA, respecto a las plantas en la semana 0.

Asimismo los resultados de daño nuclear de *G. lavandulifolium* fueron mayores en temporada de secas y disminuyeron conforme aumentaron las precipitaciones, en esta planta el daño fue acumulativo, debido a que en las semanas 8, fecha 18 de

marzo, semana 6, fecha 11 de mayo en la temporada de secas y en la semana 6, fecha 1 de julio en la temporada de lluvias fue más alto el nivel de daño. Aunque los contaminantes (CO, NO, NO₂, NO_x y SO₂) fueron menores en ALTZ que en el CCA, en la figura 25 se observó que la contaminación del aire es más alta en temporada de secas que en la de lluvias al igual que en la estación CCA. Dado los resultados en esas fechas se puede inferir que las precipitaciones ayudan a que los contaminantes disminuyan en la atmósfera (SEMARNAT, 2013) y en consecuencia que el daño genético en las plantas también se reduzca. Por otra parte, la altitud es un factor para la concentración de contaminantes debido a que el O₃ fue más alto en la estación meteorológica ALTZ.

Entre los contaminantes monitoreados se encuentra el SO₂, el NO₂, el O₃ y el material particulado, los cuales están reportados como los más nocivos, ya que en experimentos *in vitro* el SO₂ daña el crecimiento a corto plazo, el O₃ necrosa y de acuerdo con Feng et al. (2017) es el gas más nocivo para la vegetación en todo el mundo, sin embargo depende de la anatomía de las hojas. Por lo que se recomienda estudios fisiológicos y anatómicos en posteriores investigaciones para detectar las diferencias de susceptibilidad; mientras que el NO₂ acidifica la planta y los metales pesados del material particulado se pueden unir a proteínas e intercalarse en el DNA (Dizengremel et al. 2008; Darrall, 1989 Navarro et al., 2007; Wada et al., 1987). Sin embargo, la atmósfera es una mezcla de gases, partículas e hidrocarburos etc. Ésta mezcla puede ser amplificada en las plantas porque son autótrofos, realizan fotosíntesis a partir del CO₂, dicho gas para los seres humanos es altamente nocivo pero en las plantas ayuda a su crecimiento (Caemmerer y Farquar 1981), no obstante al ser absorbido por los estomas junto con otros contaminantes como el NO₂ y el SO₂, puede cambiar el efecto, por ejemplo; cuando hay mayor proporción de NO₂ y SO₂ que el CO₂, como defensa la planta cierra los estomas, en consecuencia se reduce la captación del CO₂, afectando la fotosíntesis y la transpiración (Darrall, 1989), además a altas concentraciones de CO₂ puede afectar a las plantas cuando no tienen los nutrientes necesarios en el suelo, sin embargo, no hay evidencia suficiente de los efectos directos del CO₂,

así como su relación con otros contaminantes en la apertura de los estomas. Este mecanismo es importante porque puede cambiar la dinámica de los contaminantes en la planta tanto perjudicial como benéfica. Por otro lado, la morfología de las plantas es crucial para la entrada de los gases y del material particulado pequeño, por ejemplo; entre más estomas tienen las plantas serán menos tolerantes a la contaminación atmosférica así también influye la distribución de éstos, ya que, hay plantas que tienen estomas en ambas caras de la hoja llamadas anfiestomáticas y otras solo en la parte del envés llamadas hipoestomáticas (Hällgren y Gezelius 1982; Keller, 1978; Pande y Mansfield 1985; Reich y Amundson 1985; Saxe, 1983).

Los mecanismos de reparación de las plantas es variable, ya que en algunas especies a larga exposición de contaminación tienen daños irreversibles (Li et al., 2016), probablemente provocado por la bioacumulación del contaminante en los tejidos y la falta de reparación de daños (Amundson y Weinstein 1981; Mansfield y Majernik 1970). Por otro lado, en ciertas especies, el daño es mayor en un corto período y menor a largo plazo de la exposición, esto puede estar relacionado con la aclimatación, ya que realizan cambios en su morfología, como engrosar las células epidérmicas o alargar los tricomas y modular la apertura de estomas, por otra parte, cuando la concentración de los contaminantes es demasiado alta, estos pueden entrar dañando la cutícula (Rai, 2016). Por lo que es difícil entender cuáles son los mecanismos de *S. roseus* y *G. lavandulifolium* para impedir los daños por la contaminación en su estructura. Además las condiciones meteorológicas en las zonas de exposición, como la diferencia de radiación, debido a que a altos niveles de luz ultravioleta, las plantas pueden deshidratarse ocasionando efectos negativos en sus mecanismos y así provocar un mayor registro del mismo (Darrall, 1989). También se ha observado que durante eventos de inversión térmica los contaminantes se encuentran con mayor disponibilidad en los sistemas vegetales porque estos se encuentran a bajas alturas (Jiménez, 2001). Dado los resultados las inversiones térmicas están relacionadas con las contingencias y estas a su vez a los momentos de cauda más altos en ambas especies en la temporada de

secas, ya que, de acuerdo con la Dirección de Monitoreo Atmosférico de 2016, la primera contingencia se presentó el 16 de marzo con más de 203 puntos IMECAS por O₃, esto también se refleja en las figuras 16 y 17 del momento de la cauda de *S. roseus* y *G. lavandulifolium*. En las cuales la semana 8 con fecha 18 de marzo presenta los mayores daños de DNA con respecto a las semanas anteriores.

En *S. roseus* no se encontró una acumulación de daños al DNA. La figura 16, que representa el momento de cauda muestra fluctuaciones relacionadas con los altos niveles de contaminación obtenidos por la Dirección de Monitoreo Atmosférico de la Ciudad de México, los resultados del daño genético coinciden con los altos niveles de contaminantes gaseosos (CO, NO_x, NO₂, NO, O₃, SO₂ y PM_{2.5}), durante la temporada de secas y de lluvias, por lo que el daño genotóxico de *S. roseus* posiblemente se deba a la exposición por contaminantes atmosféricos a corto plazo, y emplee mecanismos de reparación de daño.

Es difícil conocer cuales gases o partículas son la causa del daño genotóxico, debido a que la atmósfera es una mezcla de gases, como se ha mencionado y por otro lado, las plantas pueden metabolizarlos y en consecuencia no sea observable el efecto, independientemente de la duración de la exposición (Doley, 2017).

En *G. lavandulifolium* durante las temporadas de secas en las estaciones de ALTZ y CCA hay acumulación de daño conforme al tiempo transcurrido, sin embargo, en la temporada de lluvias en los meses de junio, julio y agosto en el CCA el daño en *G. lavandulifolium* va disminuyendo conforme al paso del tiempo, y en septiembre vuelve a incrementarse, en tanto, en la estación ALTZ sucede lo contrario, en junio, julio y agosto el daño genético es proporcional al tiempo, pero el crecimiento es menor que en la temporada de secas. Durante el mes de septiembre no hay relación del daño con el tiempo. (Figura 17). La acumulación de daño se ha observado en otras especies, por ejemplo en *Euonymus japonicus* expuesta en zonas cercanas a fuentes móviles, donde el daño genotóxico se incrementó con el transcurso del tiempo (Li et al., 2016).

Los valores del momento de la cauda difiere en las especies, ya que en *S. roseus* es más alto que en *G. lavandulifolium*, esto puede deberse a discrepancias interespecíficas que les permite reaccionar de manera distinta a la contaminación, por ejemplo la presencia de cutícula, ceras y tricomas, los cuales son la primera barrera para la entrada de contaminantes (Heath et al., 2009). De acuerdo con Loza (2016) también encontró diferencias de sensibilidad y expresión de microRNAs en las especies *R. gerberifolius* y *T. officinale*. Otras investigaciones en plantas como en el género *Pinus*, los efectos morfológicos y fisiológicos por exposición al O₃ cambian conforme la especie (Feng et al., 2017). En el caso del estudio en *S. oleraceus* y *P. major*. *S. oleraceus* muestra mayor susceptibilidad al O₃ que *P. major*. (Su et al., 2017).

Doley (2017), menciona que la mayoría de los grupos de plantas son sensibles a los contaminantes, pero las especies estrechamente relacionadas e incluso las variedades, pueden diferir sustancialmente en la sensibilidad. Por tanto, la selección de una especie o variedad depende del contaminante y de la ubicación. También se debe mencionar que está involucrada la cantidad de luz, humedad, transpiración de la planta y la diversidad de respuesta (Darrall, 1989).

En general durante la temporada de lluvias el daño genético fue menor que en temporada de secas en ambas especies. Esto se debe posiblemente a que en los meses de junio, julio, agosto y septiembre hay mayor cantidad de precipitaciones, debido a que las nubes inhiben la fotoquímica evitando reacciones secundarias entre los contaminantes gaseosos y las lluvias eliminan los gases y las partículas precipitándolas, en consecuencia el O₃ baja su concentración por disminución de contaminantes primarios. Mientras que en la temporada de secas son frecuentes las inversiones térmicas, hay menor cantidad de precipitaciones, falta de humedad y de circulación tanto vertical como horizontal (SEDEMA, 2015).

Hay diversos estudios sobre las afectaciones que tiene la contaminación en las plantas silvestres, cultivos, árboles y hasta en hongos *in vitro* (Amundson y Weinstein 1981; Shimizu et al., 1980), sin embargo, todavía faltan investigaciones sobre los efectos *in vivo*, los mecanismos que tienen las plantas para reducir los daños, así como mayor información sobre los efectos sinérgicos o antagónicos en la salud humana y en otros seres vivos.

Esta investigación es útil para observar la respuesta que tuvieron las especies *S. roseus* y *G. lavandulifolium*, durante la temporada de secas y de lluvias con diferente concentración de contaminantes, debido a que ambas estaciones tienen distintas fuentes de emisiones, ya que la estación de ALTZ se encuentra muy cerca del volcán activo Popocatepétl y el CCA se ubica cerca de avenidas con parque vehicular, en la Delegación Coyoacán de la Ciudad de México. Las diferencias del daño en el DNA en las plantas expuestas en las dos estaciones siempre fueron distintas, las plantas expuestas en la estación del CCA tuvieron mayores índices de daño que en la estación de ALTZ.

Dado la literatura, la mezcla de contaminantes es perjudicial para las plantas, con base en los resultados del monitoreo de contaminación, posiblemente el daño al DNA en las dos especies utilizadas está relacionado con la concentración de contaminantes atmosféricos que es diferente entre la temporada de secas y de lluvias, ya que estos están regulados por las precipitaciones, el viento, la radiación, la temperatura y las inversiones térmicas.

Las plantas como los seres humanos son alterados por los mismos contaminantes atmosféricos, sin embargo los resultados nocivos al DNA encontrados mediante el ensayo cometa versión alcalina en esta investigación no pueden ser extrapolados a los efectos deletéreos inducidos en el hombre, pero si constituyen un aspecto importante en la latencia de estos gases genotóxicos que ponen en riesgo a otros organismos. Dado que, pueden proporcionar una predicción indirecta de la exposición a los contaminantes atmosféricos en un entorno definido y sus cambios

en el tiempo. Por otro lado el costo es menor al mantener estos organismos en el laboratorio en contraste con otros sistemas biológicos como los mamíferos, no obstante no pueden sustituir los métodos físicos y químicos de vigilancia ambiental, solo reforzarla.

X. CONCLUSIONES

El ensayo cometa en su versión alcalina es una prueba sensible para detectar rupturas de una sola cadena de DNA y sitios álcali lábiles en células individuales inducidas por contaminantes atmosféricos en plantas silvestres.

Ambas especies *S. roseus* y *G. lavandulifolium* resultaron adecuados monitores de daño al DNA inducido por contaminación atmosférica, aunque no se conoce la composición exacta de los contaminantes que causaron el daño al DNA, se puede inferir que la mezcla de éstos en los que destacan (NO_x, NO₂, NO, SO₂, O₃, CO y PM_{2.5}) perjudicaron el DNA de las plantas, ya que coinciden los niveles más altos de los mismos con el daño genético.

Los resultados de este trabajo coinciden con otras investigaciones encontradas en la literatura. Por tanto, los efectos en el DNA por los contaminantes atmosféricos en las plantas *S. roseus* y *G. lavandulifolium* pueden ser utilizados para evaluar el riesgo por exposición a éstos y así prevenir daños en los humanos, por lo que ambas especies pueden ser propuestas como organismos centinela.

XI. PERSPECTIVAS

- La información sobre cómo los contaminantes afectan al DNA es escasa, por tanto este estudio puede abrir una línea de investigación importante, por otra parte es necesario conocer la fisiología de las especies para entender los mecanismos de reparación de daño y llegar a conclusiones más precisas.
- Se debe realizar otras investigaciones *in vitro* para conocer específicamente que contaminantes son los causantes del daño al DNA.
- Además es importante realizar análisis con mezclas de gases para conocer los efectos sinérgicos.
- Y finalmente se propone estudiar otros organismos ya que la contaminación afecta las interacciones, así como, tomar en cuenta más parámetros de daño, para entender los efectos fisiológicos y morfológicos que provocan los gases.

XII. REFERENCIAS

- Agrawal M. y Deepak S. (2003). Physiological and biochemical responses of two cultivars of wheat to elevated levels of CO₂ and SO₂, singly and in combination. *Environmental Pollution* 121, 189–197.
- Agrawal M., Singh B., Agrawal S.B., Bell J. y Marshall F. (2006). The effect of air pollution on yield and quality of mungbean grown in periurban areas of Varanasi. Water, air, soil pollution. *Environmental Pollution* 169, 239–254.
- American Lung Association. (2001). Urban air pollution and health inequities: a workshop report. *Environmental Health Perspectives* 109, 357–374.
- Amundson R. y Weinstein L. (1981). Joint action of sulphur dioxide and nitrogen dioxide on foliar injury and stomatal behavior in soybean. *Environmental Quality* 10, 204–206.
- Ansoar Y., Fontanetti C., Christofolletti C. y Díaz S. (2015). Aplicaciones del ensayo cometa en genética ecotoxicológica. *CENIC, Ciencias Biológicas* 46, 51–62.
- Ariño V., Azuaya T., García A. y Gómez A. (1997). Els líquens com a bioindicadors de la qualitat atmosfèrica: el cas de la vall de Fumanya. *Bol. Inst. Cat. Hist. Nat.* 65, 5–13.
- Arrieta O., Guzmán DA., Alba F., Acosta A., Alatorre J., Alexander J., Allende S., Alvarado S., Araujo M., Argote-Greene L., Aquino C., Astorga A., Astudillo H., Avilés A., Barajas L., Barroso N., Blake M., Cabrera P., Calderillo G., Campos A., Cano A., Capdeville D., Castillo G., Casillas C., Castillo P., Corona J., Correa M., Cortez S., Cruz J., De la Garza J., De la Mata M., De la Peña C., Domínguez M., Domínguez H., Domínguez L., Domínguez A., Durán J., Enríquez M., Elizondo A., Escobedo A., Espinosa P., Flores A., Flores J., Franco F., Franco E., Franco R., Fuentes H., Galicia S., Gallardo D., Gamboa A., García J., García C., García M., García R., Gerson R., Gómez A., Green L., Guillén M., Gutiérrez H., Ibarra C., Jiménez E., Juárez P., Juárez A., Kelly J., Kuri R., Lázaro J., León E., Llanos S., Loyola U., López J., López F. Loustaunau M., Macedo E., Machado L. Magallanes M., Martínez L., Martínez J., Martínez G. Medina A., Meneses A., Mohar A., Morales J., Morales J., Motola D., Nájera M., Núñez C., Ocampo M., Ochoa M., Olivares C., Palomar P., Patiño A., Pérez A., Peña Y., Pérez A., Aquilino A., Pinaya P., Pointevin M., Poot P., Posadas R., Ramírez M., Reyes I., Robledo J., Rodríguez J., Rojas C., Romero E., Rubio J., Sáenz J., Salazar M., Sánchez K., Sansores R., Santillán P., Silva J., Téllez J., Toledo V., Torre L., Torecillas L., Torres M., Tovar M., Turcott J., Vázquez J., Vázquez M., Vilches N., Villegas J., Zamboni M., Zamora J. y Zinser J. (2013). Consenso nacional de diagnóstico y

tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas. *Revista de Investigación Clínica* 65, 5–84.

- Baier M., Kandlbinder A., Gollack D. y Dietz K. (2005). Oxidative stress and ozone: perception, signalling and response. *Plant, Cell and Environment* 28, 1012–1020.
- Bell J., Power S. y Doley D. (2003). Plants y atmospheric pollution. *Plants and Environment* 22, 756–765.
- Britt A. (1999). Molecular genetics of DNA repair in higher plants. *Trends Plant Science* 4, 20–25.
- Bryson B. (2004). Una breve historia de casi todo. Barcelona RBA 3 p.p.
- Buell P. y Giarard J. (2003). Chemistry fundamentals and environmental perspective second Edition. Jones and Bartlett, Sudbury, Massachusetts 326.
- Burken J. (2003). Uptake and metabolism of organic compounds: green-liver model. In *Phytoremediation: Transformation and control of contaminants*, ed. SC McCutcheon, JL Schnoor, 59–84.
- Brunekreef B. y Holgate T. (2002). Air pollution and health. *The Lancet* 360, 1233–1242.
- Cárdenas N. y Pedraza J. (2006). Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. *Profesores al día (biomedicina)* 17, 166–173.
- Caemmerer S. y Farquhar G. (1981). Some relationships between the biochemistry and gas exchange of leaves. *Planta* 153, 376–378.
- Calderón G. y Rzendowski J. (2005). Flora fanerogámica del valle de México. 2da ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán 20.
- Carnicer J. (2008). *Contaminación Atmosférica. Contaminación Atmosférica* 1. 32 p.p.
- CENAPRED (2016). Trabajos de instrumentación, Cerro Alzomoni. Recuperado <http://www.cenapred.gob.mx/es/Instrumentacion/InstVolcanica/MVolcan/Alnstrumentacion/Popocatepetl/Alzomoni/> consultado el 26 de mayo de 2017.
- Chaves L., Costa L. y Rocha P. (2017). Fuzzy model to estimate the number of hospitalizations for asthma and pneumonia under the effects of air pollution. *Revista Saúde Pública* 51, 51–55.

- Cohen A., Pope A. y Speizer F. (1997). Ambient air pollution as a risk factor for lung cancer. *Salud Pública de México* 39, 1–10.
- Collins A. (2004). The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Molecular Biotechnology* 26, 249–261.
- Cook P. y Brazell I. (1976). Characterization of nuclear structures containing superhelical DNA. *Journal Cell Science* 22, 303–324.
- Damian P., González L., Lope A. y Espino N. (2013). Manual de prácticas de laboratorio. Técnicas básicas de Biología Molecular. UAM, México p.p.10.
- Darrall N. (1989). The effect of air pollutants on physiological processes in plants. *Plant, Cell and Environmental*. 12, 1–30.
- Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU., Servicio de Salud Pública Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (2012). Resumen de salud pública. Monóxido de Carbono. Recuperado de https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs201.pdf 23/02/17.
- Diario Oficial de la Federación. (1994a). NORMA Oficial Mexicana NOM-021-SSA1-1993, Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente con respecto al monóxido de carbono (CO). México.
- Diario Oficial de la Federación. (1994b). NOM-023-SSA1-1993, Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente con respecto al bióxido de nitrógeno (NO₂). México.
- Diario Oficial de la Federación (2010). NORMA Oficial Mexicana NOM-022-SSA1-2010, Salud Ambiental. Criterio Para Evaluar La Calidad Del Aire Ambiente, Con Respecto Al Dióxido de Azufre (SO₂). Valor Normado Para La Concentración de Dióxido de Azufre (SO₂) En El Aire Ambiente, Como Medida de Prot. México.
- Diario Oficial de la federación. (2013). *NORMA Oficial Mexicana NOM-025-SSA1-2014, Salud Ambiental. Valores Límite Permisibles Para La Concentración de Partículas Suspendidas PM10 Y PM2.5 En El Aire Ambiente Y Criterios Para Su Evaluación*. México
- Diario Oficial de la Federación. (2014). NORMA Oficial Mexicana NOM-020-SSA1-2014, Salud ambiental. Valor límite permisible para la concentración de ozono (O₃) en el aire ambiente y criterios para su evaluación. México.
- Díaz J., Linares C., García R., López C. y Trigo R. (2004). Impact of Temperature and Air Pollution on the Mortality of Children in Madrid. *JOEM* 46. 1–7.

Dirección de Monitoreo Atmosférico (2016). Dióxido de nitrógeno NO₂. Monóxido de carbono CO. Dióxido de azufre SO₂. Ozono O₃. Partículas de pm 10 y pm 2.5 Recuperado de <http://www.aire.cdmx.gob.mx/default.php?opc=%27aqBhnmOkYQ==%27>, el 17 de marzo del 2017.

Dizengremel P., Le T., Bagard, M. y Jolivet Y. (2008). Ozone risk assessment for plants: Central role of metabolism-dependent changes in reducing power. *Environmental Pollution* 156, 11–15.

Dole D. (2017). Plants as Pollution Monitors. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, 2nd edition 3, 341–346.

Douglas W., Dockery D., Poper A., Xu X., Spengler J., Ware J., Fay M., Ferris B. and Speizer F. (1993). An association between air pollution and mortality in six U.S. cities. *New England Journal of Medicine* 329, 1753–1759.

Ersson C. y Möller L. (2011). The effects on DNA migration of altering parameters in the comet assay protocol such as agarose density, electrophoresis conditions and durations of the enzyme or the alkaline treatments. *Mutagenesis* 26, 689–695.

Escobedo J., Victoria A. y Ramírez A. (2010). *La problemática ambiental en la Ciudad de Mexico generada por las fuentes fijas*. Secretaría del Medio Ambiente. México. 14 p.p.

Ezcurra E. (1991). Inversiones térmicas. *Revista Ciencias* 22, 51–53.

Fairbairn D., Olive P. y O'Neill K. (1995). The comet assay: a comprehensive review. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology* 339, 37–59.

Feng Z., Buker P., Pleijel H., Emberson L., Karlsson E. y Uddling J. (2017). A unifying explanation for variation in ozone sensitivity among woody plants. *Global Change Biological* 1, 1–7.

García A., Jazcilevich A., Ruiz L., Torres R., Suarez M. y Resendiz N. (2009). Ozone weekend effect analysis in Mexico city. *Atmósfera* 22, 281–297.

García L. y Rubiano O. (1984). Comunidades de líquenes como indicadores de niveles de calidad del aire en Colombia. *Contaminación Ambiental* 8, 73–90.

Gichner T., Znidar I., Wagner D. y Plewa M. (2009). The Comet Assay in Toxicology. *Royal Society of Chemistry* 6, 98–119.

- Gedik C., Ewen S. y Collins A. (1992) Single cell gel electrophoresis applied to the analysis of UV-C damage and its repair in human cells. *International Journal Radiation Biology* 62, 313–332.
- Glei M., Schneider T. y Schlörmann W. (2016). Comet assay: an essential tool in toxicological research. *Archives of toxicology* 90, 2315–2336.
- Gómez M. y Danglot C. (1998). Contaminación ambiental en el valle de México ¿Estamos haciendo lo necesario? *Revista Mexicana de Pediatría* 65, 254–260.
- Google Maps. Centro de ciencias de la atmosfera. Recuperado de <https://www.google.com.mx/maps/@19.3230987,99.1759564,379a,20y,41.15t/data=!3m1!1e3> consultado el 17 de marzo del 2017
- Gopalan H. (1999). Ecosystem health and humanwell being: the mission of the international programme on plant bioassays. *Mutat Res.* 426, 99–102.
- Grant W. (1994). The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. *Mutation Reserch* 310, 175–185.
- Grant W. (1999). Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations-a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals. *Mutation Reserch. Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 426, 107–112.
- Hale K., McGrath S., Lombi E., Stack S., y Terry N. (2001). Molybdenum sequestration in *Brassica*: a role for anthocyanins? *Plant Physiology* 126, 1391–1402.
- Hällgren J. y Gezelius K. (1982). Effects of SO₂ on photosynthesis and ribulose biphosphate carboxylase in pine tree seedling. *Physiological plantarum* 54, 153–161.
- Hansberg W. (2002). Biología de las especies de oxígeno reactivas. UNAM. México. 35 p.p.
- Heath R. (1999). Biochemical processes in an ecosystem: How should they be measured? *Kluwer Academic Publishers* 116, 279–298.
- Heath R., Lefohn A. y Musselman R. (2009). Temporal processes that contribute to nonlinearity in vegetation responses to ozone exposure and dose. *Atmospheric Environment* 43, 2919–2928.
- Hollander A., Melse J., Lebret E. and Kramers P. (1999). An aggregate public health indicator to represent the impact of multiple environmental exposures. *Epidemiology* 10, 606–617.

- Horvathova E., Dusinska M., Shaposhnikov S. y Collins A. (2004). DNA damage and repair measured in different genomic regions using the Comet assay with fluorescent in situ hybridization. *Mutagenesis* 19, 269–276.
- IARC. (2013). *Air pollution and cancer. International Agency for Research on Cancer, Scientific Publications N°161*. France. 240–251.
- IMCO. (2016). *Análisis de una contingencia anunciada: recomendaciones para mejorar la calidad del aire en el largo plazo*. México. Recuperado de http://imco.org.mx/medio_ambiente/analisis-de-una-contingencia-anunciada-recomendaciones-para-mejorar-la-calidad-del-aire-en-el-largo-plazo/ consultado el 23/03/17.
- INEGI. 2017. Número de habitantes. Página oficial de estadísticas. Recuperado de <http://www.inegi.org.mx/sistemas/bie/?idserpadre=10900530&d10900530#D10900530> consultado el 07/07/17.
- Jiménez B. (2001). La contaminación ambiental en México: causas, efectos y tecnología. México. Limusa. P.p. 336, 354, 356–360.
- Kampa M. y Castanas E. (2008). Human health effects of air pollution. *Environmental Pollution* 151, 362–367.
- Katsouyanni K. (2003). Ambient air pollution and health. *British Medical Bulletin* 68, 143–156.
- Keller T. (1978). Einfluss niedriger SO₂ Konzentrationen auf die CO₂- Aufnahme von Fichte und Tanne, *Photosynthetica* 12, 316–322.
- Kersteins G. y Lenzian K. (1989). Interactions between ozone and plant cuticle. I. Ozone deposition and permeability. *New Phytologist* 112, 13–19.
- Kimura A., Miyata A. y Honma M. (2013). A combination of in vitro comet assay and micronucleus test using human lymphoblastoid TK6 cells. *Mutagenesis* 28, 583–90.
- Klatt F.(1894). *Asteracea, Senecio roseus. Annalen des Kaiserlich-Königlichen Naturhistorischen Hofmuseums* 9, 366 p.p.
- Klaude M., Eriksson S., Nygren J. y Ahnström G. (1996) The comet assay: mechanisms and technical consideration. *Mutation Research* 363, 89–96.
- Koppen G. y Verschaeve L. 1996. The alkaline comet test on plant cells: a new genotoxicity test for DNA strand breaks in *Vicia faba* root cells. *Mutation Reserch* 360, 193–200.

- Krupa V. y Manning J. (1988). Atmospheric ozone: Formation and effects on vegetation. *Environmental Pollution* 50, 101–137.
- Larcher W. (1995). Physiological plant ecology. *Springer*. (3). Nueva York. 327 – 333.
- Legge A. y Krupa, S. (2002). Effects of sulphur dioxide. In Bell, J.N.B., Treshow, M., eds, *Air Pollution and Plant Life*. John Wiley and Sons, West Sussex, England 130–162.
- Lehninger A., Nelson D., Cox M., Cuchillo C., León p. y Vendrell (2009). Principios de bioquímica. 5ed. 1241 p.p.
- Li T., Zhang, M., Gu K., Herman U., Crittenden J., y Lu Z. (2016). DNA damage in *Euonymus japonicus* leaf cells caused by roadside pollution in Beijing. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13. 1–12.
- Li A., Zhang X., Chen M. y Cao Q. (2007). Oxidative stress and DNA damages induced by cadmium accumulation. *Environmental Sciences* 19, 596–602.
- Lower W., Sandhu S., y Thomas M. (1990). Utility of in situ assays for detecting environmental pollutants. In *Waste Testing and Quality Assurance: Second Volume*. ASTM International
- Machado, A., García, N., García, C., Acosta, L., Córdova, A., Linares M., Giraldoto D. y Velásquez, H. (2008). Contaminación por metales (Pb, Zn, Ni y Cr) en aire, sedimentos viales y suelo en una zona de alto tráfico vehicular. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 24, 171–182.
- Maluszynska J. y Juchimiuk J. (2005). Plant genotoxicity: a molecular cytogenetic approach in plant bioassays. *Plant genotoxicity* 56, 177–184.
- Mansfield T. y Majernik O. (1970). Can stomata play a part in protecting plants against against air pollutants? *Environmental Pollution* 1, 149–154.
- Manzur M., Benza G. y González S. (2012). Modelo de dispersión de contaminantes atmosféricos. *VII congreso de Medio Ambiente. La plata Argentina*, 19 p.p.
- McKelvey V., Green M., Schmezer P., Pool B., De Méo M. y Collins A. (1993). The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): A European review. *Mutation Research/Fundamental Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 288, 47–63.
- Molina M. y Molina L. (2012). Megacities y atmospheric pollution. *The Air and Waste Management Association*. 54, 640–680.

- Møller P. (2006). The alkaline comet assay: Towards validation in biomonitoring of DNA damaging exposures. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology* 98, 336–345.
- Munive Z. (2009). Estudio de ácidos grasos absorbidos a las aeropartículas del suroeste de la Ciudad de México. Tesis de Maestría, Posgrado de Ciencias Químicas. UNAM. 12–44.
- Musselman R., Lefohn A., Massman W. y Heath R. (2006). A critical review and analysis of the use of exposure- and flux-based ozone indices for predicting vegetation effects. *Atmospheric Environmental*. 40, 1869–1888.
- Navarro J., Aguilar I. y López J. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas* 16, 10–25.
- Negrisoni J. y Nascimento L. (2013). Atmospheric pollutants and hospital admissions due to pneumonia in children. *Revista Paulista de Pediatría* 31, 501–506.
- Nikic D. y Stankovic A. (2005). Air pollution as a risk factor for lung cancer. *Institute of Oncology* 13, 79.
- Olive P. (1989) Cell proliferation as a requirement for development of the contact effect in Chinese hamster V79 spheroids. *Radiation Research* 117, 79–92.
- Olive P. y Banath J. (1995) Sizing highly fragmented DNA in individual apoptotic cells using the comet assay and a DNA crosslinking agent. *Experimental Cell Research* 221, 19–26.
- OMS. (2005). *Guías de calidad del aire de la OMS relativas al material particulado, el ozono, el dióxido de nitrógeno y el dióxido de azufre. Actualización mundial 2005*. 17 p.p.
- Organización Panamericana de la Salud (2005). *Evaluación de los efectos de la contaminación del aire en la salud de América Latina y el Caribe*. (D. C. Washington). 72 p.p.
- Östling O. y Johanson K. (1984) Microelectrophoretic study of radiation induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical Biophysical Research Commun* 123, 291–298.
- Oyarzún M. (2010). Contaminación aérea y sus efectos en la salud. *Revista Chilena de Enfermedades Respiratorias* 26, 16–25.
- Padilla C., Diez, J., Martínez E., Bárcena J. y García C. (2011). Electroforesis de ácidos nucleicos en geles de agarosa. Aislamiento y caracterización

- electroforética de DNA plasmídico. *Departamento de Bioquímica y Biología Molecular*, 1–8.
- Pande P. y Mansfield T. (1985). Responses of spring barley to SO₂ and NO₂ pollution. *Environmental Pollution* 38, 87–97.
- Pardos J. (2006). La contaminación atmosférica y los ecosistemas forestales. Cambio global y polución atmosférica. Efectos sobre el arbolado. *ETS de Ingenieros de Montes. UPM. España* 55–70.
- Pilon E. (2005). Phytoremediation. *Rev. Plant Biology* 56, 15–39.
- Prajapati S. y Tripathi B. (2008). Assessing the genotoxicity of urban air pollutants in Varanasi city using *Tradescantia micronucleus* (Trad-MCN) bioassay. *Environmental international* 34, 1092–1096.
- Rai R., Rajput M., Agrawal M. y Agrawal S. (2011). Gaseous air pollutants: A review on current and future trends of emissions and impact on agriculture. *Science Reserch* 55, 77–102.
- Rai P. 2016. Ecotoxicology and Environmental Safety Impacts of Particulate Matter Pollution on Plants : Implications for Environmental Biomonitoring. *Ecotoxicology and Environmental* 129, 120–136.
- Ramakrishnan V. Gowtham K. y Govindaraju S. (2011). Cytogenetic analysis of micronuclei, sister chromatid exchange and chromosomal aberrations in pan masala chewers. *International Journal of Pharma and Biological Sciences* 2, 122–132.
- Reich P. y Amundson R. (1985). Ambient levels of ozone reduce net photosynthesis in tree and crop species. *Science*, 230, 566–570.
- Risom L., Møller P. y Steffen L. (2005). “Oxidative stress-induced DNA damage by particulate air pollution.” *Mutation Research* 592, 119–37.
- Rodríguez A., Noris E. y María F.(2016). Principios y relevancia del ensayo cometa. *Rev. Cubana de Investigaciones Biomédica* 35, 184–194.
- Rojas E., López M. y Valverde M. (1999). Single cell gel electrophoresis assay: Methodology and applications. *Chromatography biomedical Sciences and applications* 722, 225–254.
- Rosales J., Torres V., Olaiz G. y Borja V. (2001). Los efectos agudos de la contaminación del aire en la salud de la población: Evidencias de estudios epidemiológicos. *Rev. de Salud pública de México* 43, 544–555.

- Rossini S. y Mingorance M. (2006). Assessment of airborne heavy metal pollution by aboveground plant parts. *Chemosphere* 65, 177–182.
- Rundell M., Wagner E. y Plewa M. (2003) The comet assay: genotoxic damage or nuclear fragmentation? *Environmental Molecular Mutagenesis* 42, 61–67.
- Rydberg B. y Johanson K. (1978) Estimation of DNA strand breaks in single mammalian cells, in: P.C. Hanawalt, E.C. Friedberg and C.F. Fox (Eds.), DNA Repair Mechanisms, Academic Press, New York. 465–468 p.p.
- Rzendowki, G. y Rzendowki, J. (2005). *Flora farenogámica del valle de México*. A. C. y C. N. para el C. y U. de la B. Instituto de Ecología, (2da. ed.). Pátzcuaro (Michoacán). 1406 p.p.
- Sánchez J., Romieu I., Ruiz S., Pino P. y Gutiérrez M. (1999). Efectos agudos de las partículas respirables y del dióxido de azufre sobre la salud respiratoria en niños del área industrial de Puchuncavi, Chile. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 6, 384–391.
- Santos S., Singh N. y Natarajan A. (1997). Fluorescence in situ hybridization with comets. *Experimental Cell Research*. 32, 407–411.
- Saxe H. (1983). Long- term effects of low levels of SO₂ on bean plants (*Phaseolus vulgaris*). Immission- response pattern of net photosynthesis, and transpiration during life-long continuous measurements. *Physiologica Plantarum* 57, 101–107.
- Schlormann W. y Gleis M. (2012). Detection of DNA damage by comet fluorescence in situ hybridization. *Methods Molecular Biology* 920, 91–100.
- SEDEMA. (2010). *Calidad del aire en la Ciudad de México*. México. Recuperado de http://www.aire.cdmx.gob.mx/descargas/publicaciones/flippingbook/informe_anual_calidad_aire_2010/#p=166 consultado el 6/02/17.
- SEDEMA. (2015). *Calidad del aire en la Ciudad de México*. México. Recuperado de http://www.aire.cdmx.gob.mx/descargas/publicaciones/flippingbook/informe_anual_calidad_aire_2015v3/mobile/ consultado el 6/02/17.
- SEMANART e INEGI. (2008). *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México*. México. 167 – 190.
- SEMARNAP. (2000). *Gestión de la calidad del aire en México*. México. 184 p.p.
- SEMARNAT y CONAPO. (2013). *Programa de manejo Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatepetl*, México. 185 p.p.

- SEMARNAT. (2012). *Informe de la situación del medio ambiente en México. compendio de estadísticas ambientales. Indicadores clave y de desempeño Ambiental. Capítulo 5. Atmósfera*. México. 360 p.p.
- SEMARNAT. (2013). Medio ambiente. Atmosfera, calidad del aire. Recuperado de http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_resumen14/05_atmosfera/5_1_1.html consultado el 26 de mayo de 2017
- Shimizu, H. Furukawa, A. y Totsuka, T. (1980). Effects of low concentrations of SO₂ on the growth of sunflower. In studies on the effects of air pollutions on plants and mechanisms of toxicity. *National Institute for Environmental studies*. 11 39–47
- Sierra M. y Terán L. (2012). Air pollution: Impact and prevention. *Respirology* 17, 1031–1038.
- Singh N., McCoy M., Tice R. y Schneider E. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research* 175, 184–191.
- Singh S. y Tuteja N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry* 48, 909–930.
- Solaz J. (2001). El Ozono Atmosférico, ¿Benefactor o Malherchor? *Universidad de Valencia* 18, 350–363.
- Speit G. y Hartman A. (2002). The comet assay (single cell gel test). A sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair. In methods in molecular biology. DNA repair protocols: eukariotic systems. *Revista Humana* 113, 203–212.
- Sriussadaporn C., Yamamoto K., Fukushi K. y Simazaki D. (2003). Comparison of DNA damage detected by plant comet assay in roadside and non-roadside environments. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 541, 31–44.
- Su B., Zhou M., Xu H., Zhang X., Li Y., Su H. y Xiang B. (2017). Photosynthesis and biochemical responses to elevated O₃ in *Plantago major* and *Sonchus oleraceus* growing in a lowland habitat of northern China. *Journal of Environmental Sciences* 5, 113–121.
- Swanson T. y Chapman J. (2017). Toxicity, Ozono. Stat Pearls. Recuperado en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430751/> el 5/07/2017.
- Taiz L. y Zeiger E. (2002). *Plant Physiology*. Sunderland, Sinauer. 690 p.p.

- Téllez M., Romieu I., Polo M., Ruiz S., Meneses F. y Hernández M. (1997). Efecto de la contaminación ambiental sobre las consultas por infecciones respiratorias en niños de la Ciudad de México. *Salud Pública de México* 39, 10 p.p.
- Trejo R. (2006). El IMECA: Indicador del grado de contaminación de la atmósfera. *Conciencia tecnológica* 31, 50–53.
- Tuteja N., Ahmad P., Panda B. y Tuteja R. (2009). Genotoxic stress in plants: Shedding Light on DNA Damage, Repair and DNA Repair Helicases." *Mutation Research* 681, 134–49.
- Tuteja N., Singh M., Misra M., Bhalla P. y Tuteja R. (2001). Molecular mechanisms of DNA damage and repair: progress in plants. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 36, 337–397.
- Tuteja T., y Tuteja R. (2001). Unravelling DNA repair in human: molecular mechanisms and consequences of repair defect. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 36, 261–290.
- Vajpayee P., Dhawan A. y Shanker R. (2006). Evaluation of the alkaline comet assay conducted with the wetlands plant *Bacopa monnieri* L. as a model for ecogenotoxicity assessment. *Environmental Molecular Mutagenesis* 47, 483–489.
- Valencia R., Sánchez J., Gómez S., Cortés J., Waliszewski S., Fernández S. y Villalobos, R. (2013). Genotoxicidad de plaguicidas en sistemas vegetales. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 29 133–157.
- Ventura L., Giovannini A., Savio M., Donà M., Macovei A., Buttafava A., Carbonera D. y Balestrazzi, A. (2013). Single cell gel electrophoresis (comet) assay with plants: Research on DNA repair and ecogenotoxicity testing. *Chemosphere* 92, 1–9.
- Villalobos R., Gómez S. y Amador O. (1998). "Mutagenicidad de las aeropartículas." *Revista Especializada en Ciencias de la Salud* 1, 3–14.
- Villarini M., Fatigoni C., Dominici L., Maestri S., Ederli L., Pasqualini S. Monarca S. y Moretti M. (2009). Assessing the genotoxicity of urban air pollutants using two in situ plant bioassays. *Environmental Pollution* 157, 3354–3356.
- Wada M., Shimizu H. y Kondo N. (1987). A model system to study the effect of SO₂ on plant cells. *Plant Research* 100, 51–62.
- Willd C. (1803). *Asteracea, Gnaphalium lavandulifolium*. *Species Plantarum* 3, 1868 p.p.

- William J. y Kolb D. (1999) .Química Para El Nuevo Milenio. Pearson. Educación, México 8va edición. 307 p.p.
- Wolterbeek, B. (2002). Biomonitoring of trace element air pollution: Principles, possibilities and perspectives. *Environmental Pollution* 120, 11–21.
- Zárate P., Jiménez C., Badillo J., Garibay C. y Oliver M. (2009). *Manual del laboratorio de biotecnología molecular*. (Instituto Politécnico Nacional). México. 7 p.p.
- Zeeshan N., Nasir M., Nasir A., Farooqi Z. y Naveed K. (2016). Air Contamination and Its impact on plants , humans and water of Pakistan Review. *Environmental Biology Sci.* 6, 32–39.
- Zhang F., Li L., Krafft T., Lv J., Wang W. y Pei D. (2011). Study on the association between ambient air pollution and daily cardiovascular and respiratory mortality in an urban district of Beijing. *Environ. Res. and public health* 8, 2109–2123.
- Zuñiga L. (2009). Optimizaciones metodológicas del ensayo cometa y su aplicación en biomonitorización humana. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Barcelona. 12–51.
- Zuñiga L. Márquez C y Duk M. (2007). Citogenetic and reproductive study in exposed seasonal women to pesticides in the VIII region of chile. *Theorias* 16, 77–87.

XIII. ANEXOS

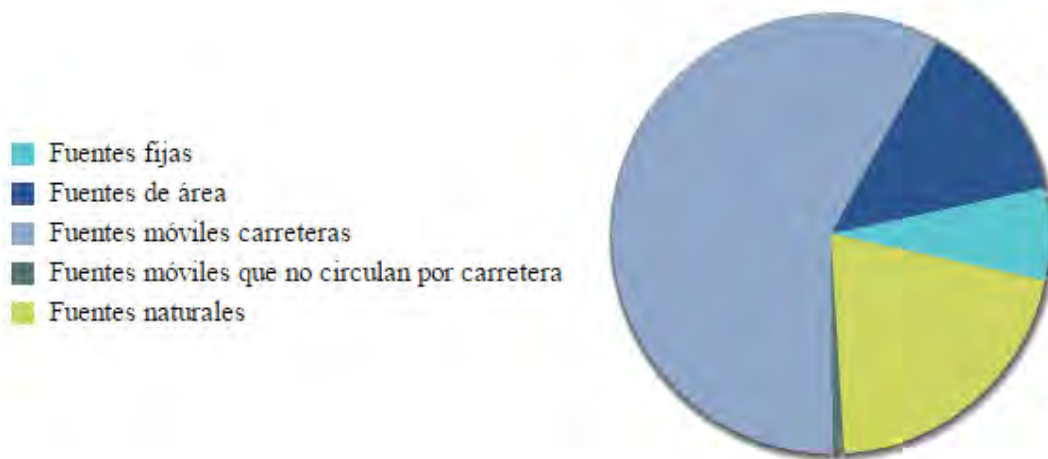


Figura 1. Emisión nacional por fuentes de contaminación 2008 (SEMARNAT, 2013).

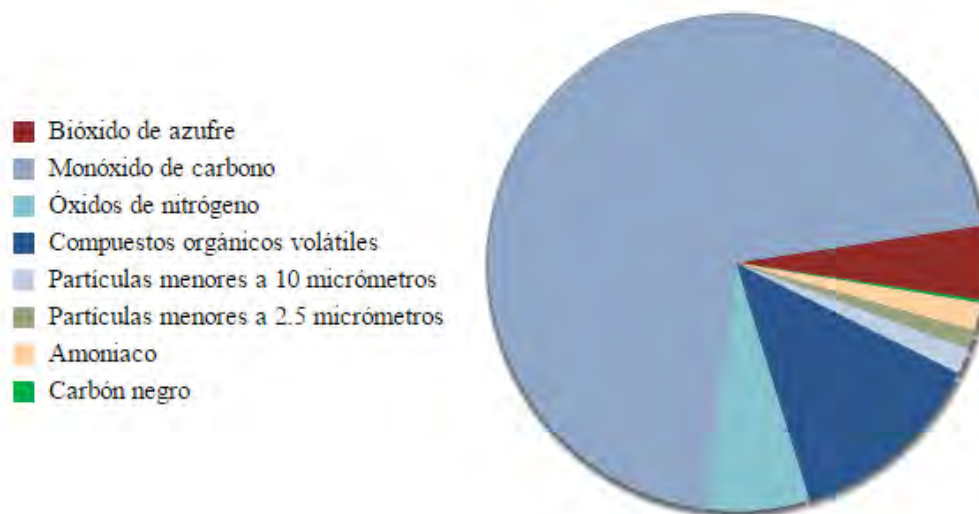


Figura 2. Emisión de origen antropogénico por contaminantes, 2008 (SEMARNAT, 2013).

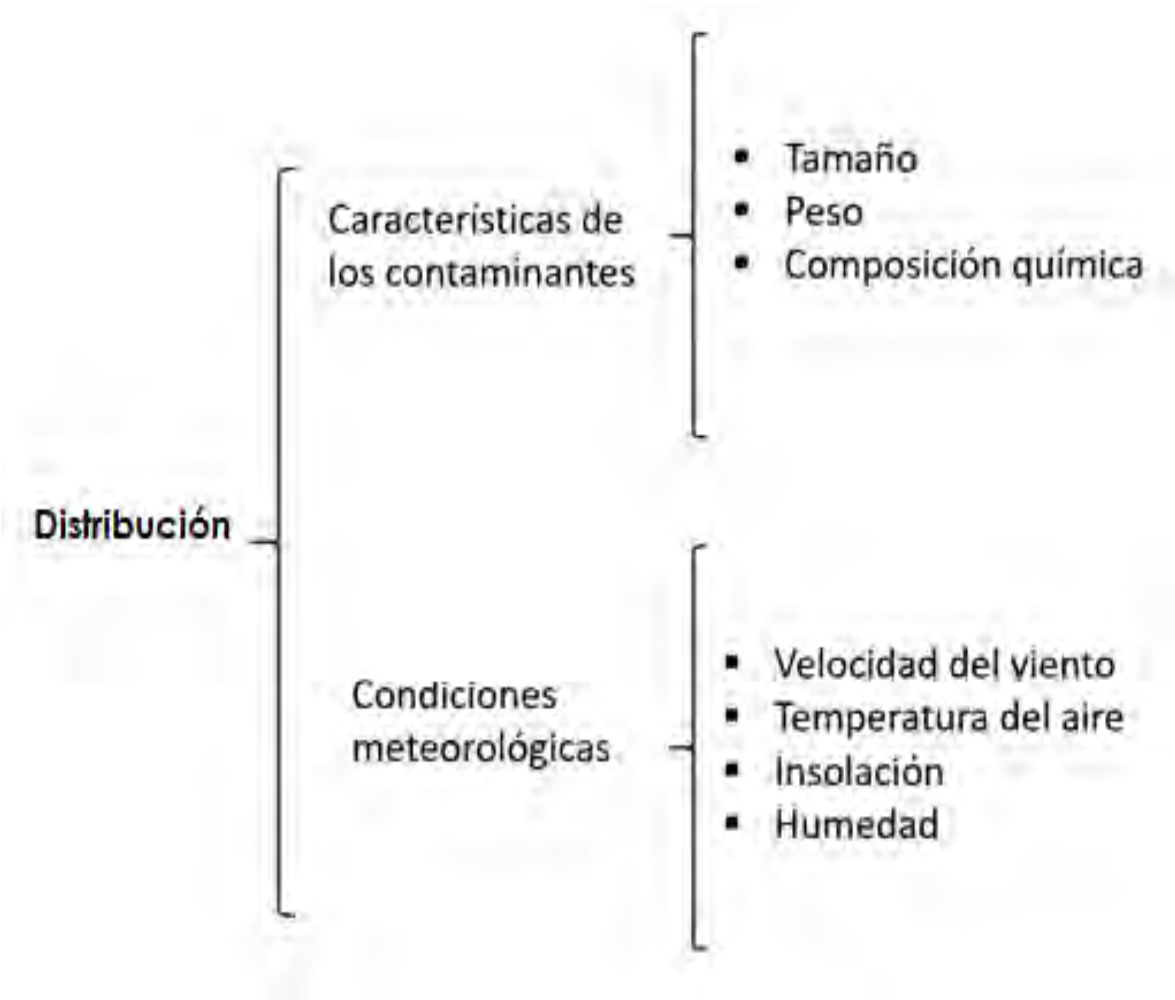


Figura 3. Factores que influyen en la distribución de los contaminantes.

Daño al DNA por contaminación atmosférica

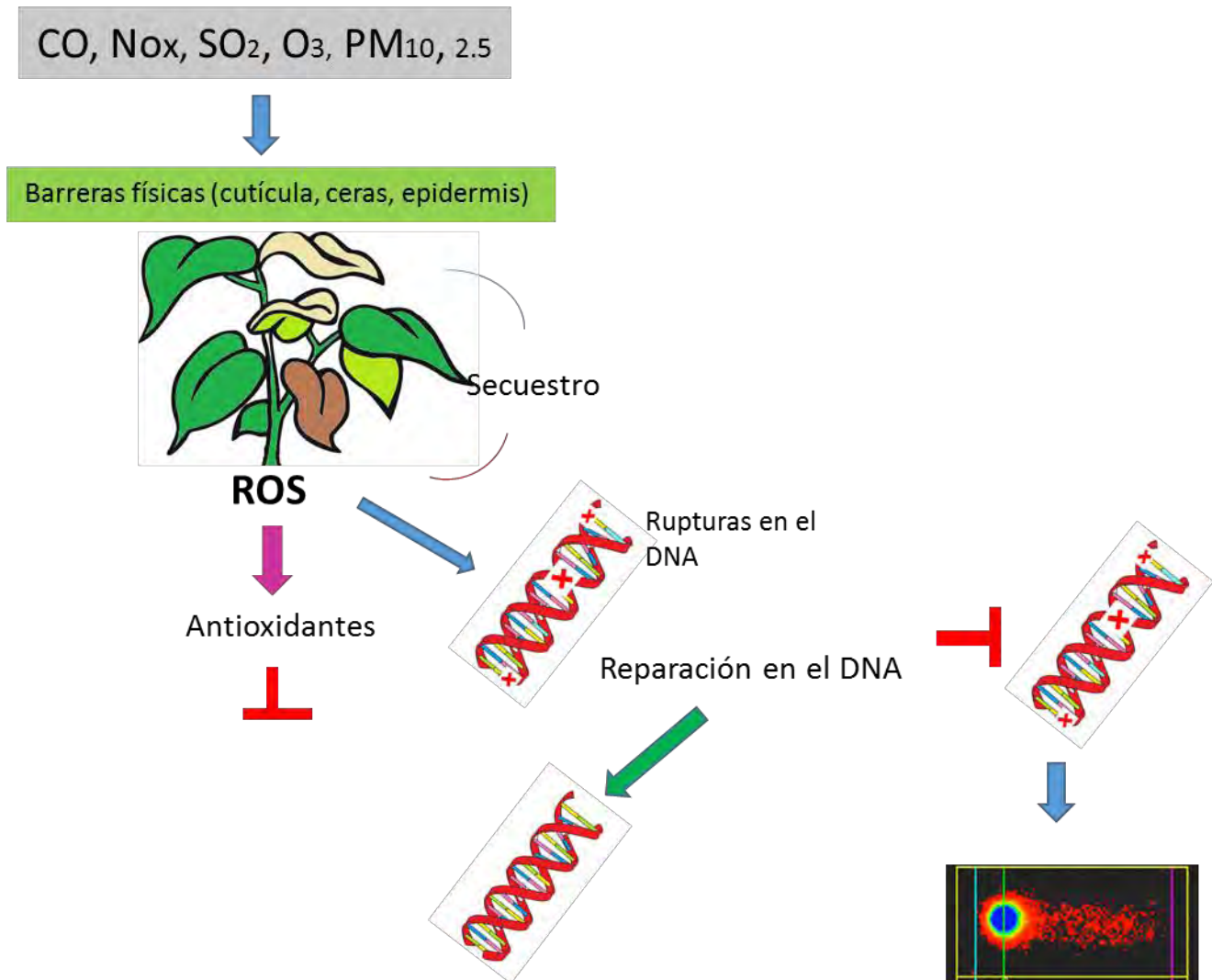


Figura 4. Mecanismo de daño en el DNA por contaminantes atmosféricos.



Figura 5. *Senecio roseus*



Figura 6. *Gnaphalium lavandulifolium*

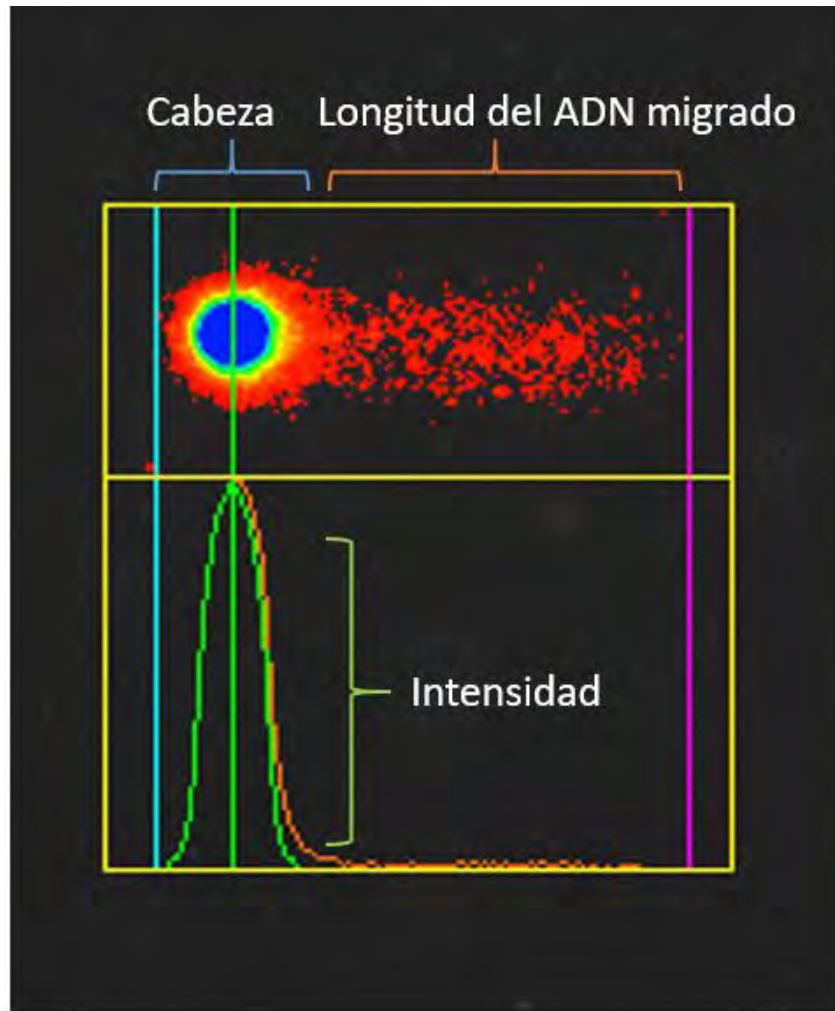


Figura 7. Características de un núcleo con daño en el ADN registrado en el programa Comet Assay IV



Figura 8. Estación Altzomoni (ALTZ) ubicada en las orillas del volcán Iztaccíhuatl a 4,000 msnm.

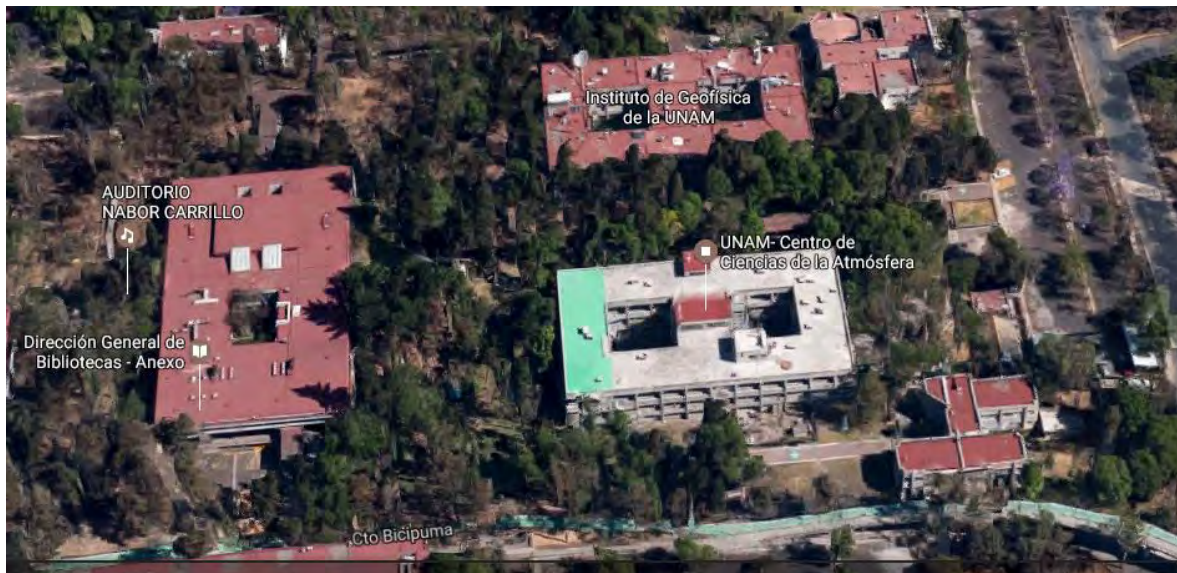


Figura 9. Ubicación, Centro de Ciencias de la Atmósfera a 2,270 msnm. Fotografía aérea 3D, proporcionada por Google Maps.

Temporada de secas (2016)		Temporada de lluvias (2016)	
Semanas	Fechas	Semanas	Fechas
0	21 de enero	0	25 de mayo
2	4 de febrero	2	8 de junio
4	18 de febrero	4	21 de junio
8	18 de marzo	6	1 de julio
0	31 de marzo	0	18 de agosto
2	15 de abril	2	1 de septiembre
4	26 de abril	4	12 de septiembre
6	11 de mayo	6	30 de septiembre

Figura 10. Calendario de las fechas donde se colectaron las plantas y se aislaron las hojas de las estaciones meteorológicas CCA, ALTZ y los grupos testigos de la cámara de crecimiento para realizar el ensayo cometa.



Figura 11. a) y b) muestreadores con plantas expuestas, protegidas de la lluvia en la estación ALTZ, c) cámara de crecimiento con condiciones controladas de temperatura, humedad y luz, d) muestreadores en la azotea del CCA, expuestas al ambiente, protegidas de la lluvia.

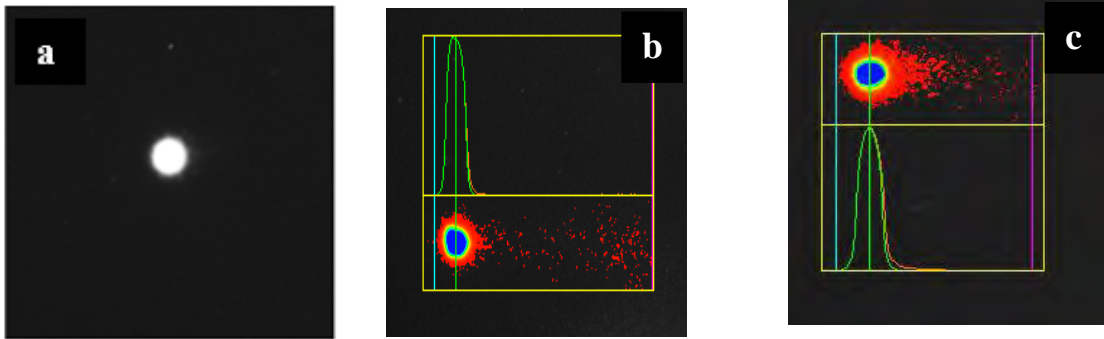


Figura 12. a) Testigo negativo con “Tail Moment” de 0.03, b) cometa con “Tail Moment” 1.61 de la estación ALTZ, c) cometa con “Tail Moment” 1.48 de la estación CCA de *S. roseus*, semana 2, temporada de secas, observado en el microscopio de fluorescencia a 200 aumentos marcado en el programa Comet Assay IV.

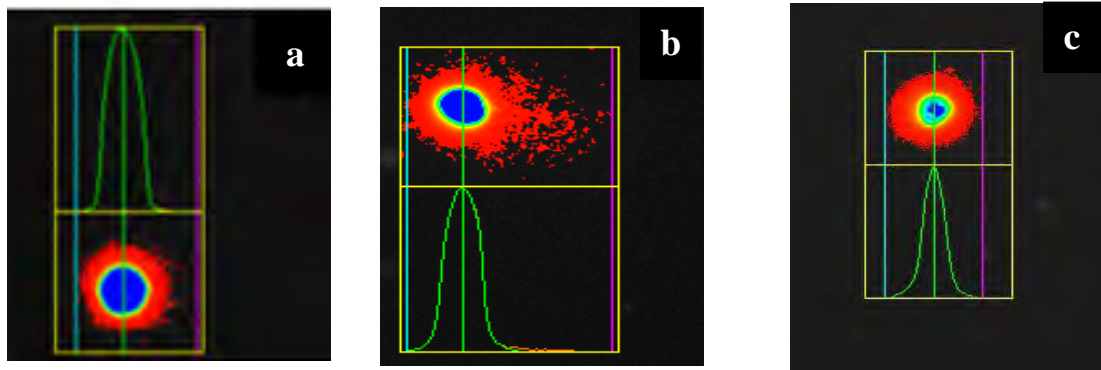


Figura 13. a) Testigo negativo con “Tail Moment” de 0.29, b) cometa con “Tail Moment” 1.38 de la estación ALTZ, c) núcleo con “Tail Moment” 0.10 de la estación CCA de *G. lavandulifolium*, semana 2, temporada de secas, observado en el microscopio de fluorescencia a 400 aumentos marcado con el programa Comet Assay IV.

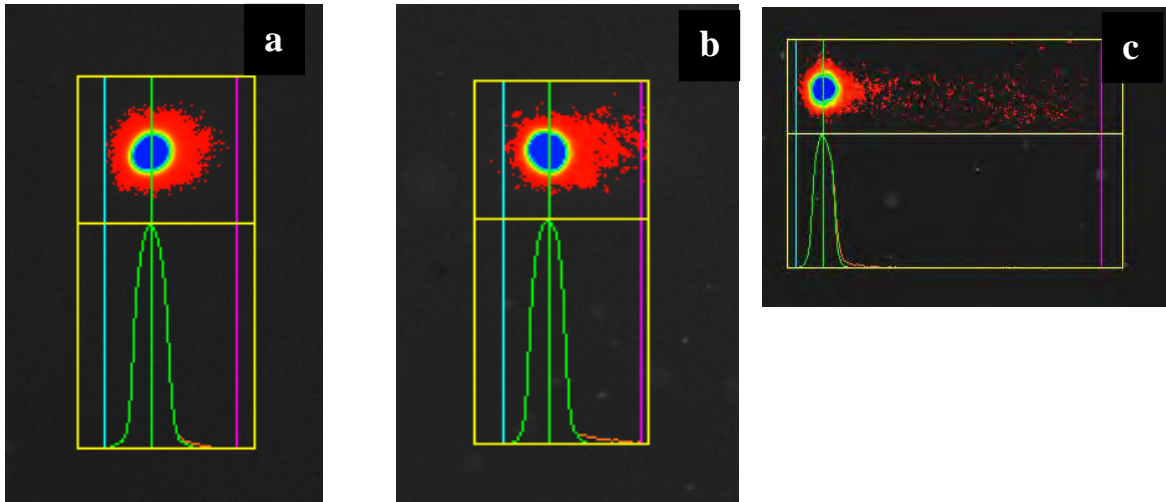


Figura 14. a) Testigo negativo con “Tail Moment” de 0.22, b) cometa con “Tail Moment” 1.51 de la estación ALTZ, c) núcleo con “Tail Moment” 2.54 de la estación CCA de *S. roseus*, semana 2, temporada de secas, observado en el microscopio de fluorescencia a 200 aumentos marcado con el programa Comet Assay IV.

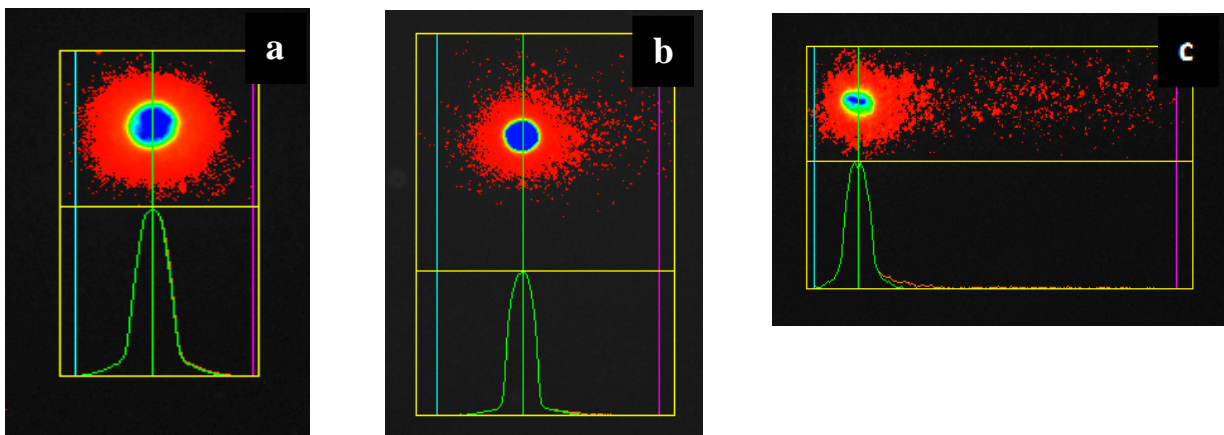


Figura 15. a) Testigo negativo con “Tail Moment” de 0.15, b) núcleo con “Tail Moment” 0.31 de la estación ALTZ, c) núcleo con “Tail Moment” 3.19 de la estación CCA de *G. lavandulifolium*, semana 2, temporada de secas, observado en el microscopio de fluorescencia a 400 aumentos marcado con el programa Comet Assay IV.

Senecio roseus

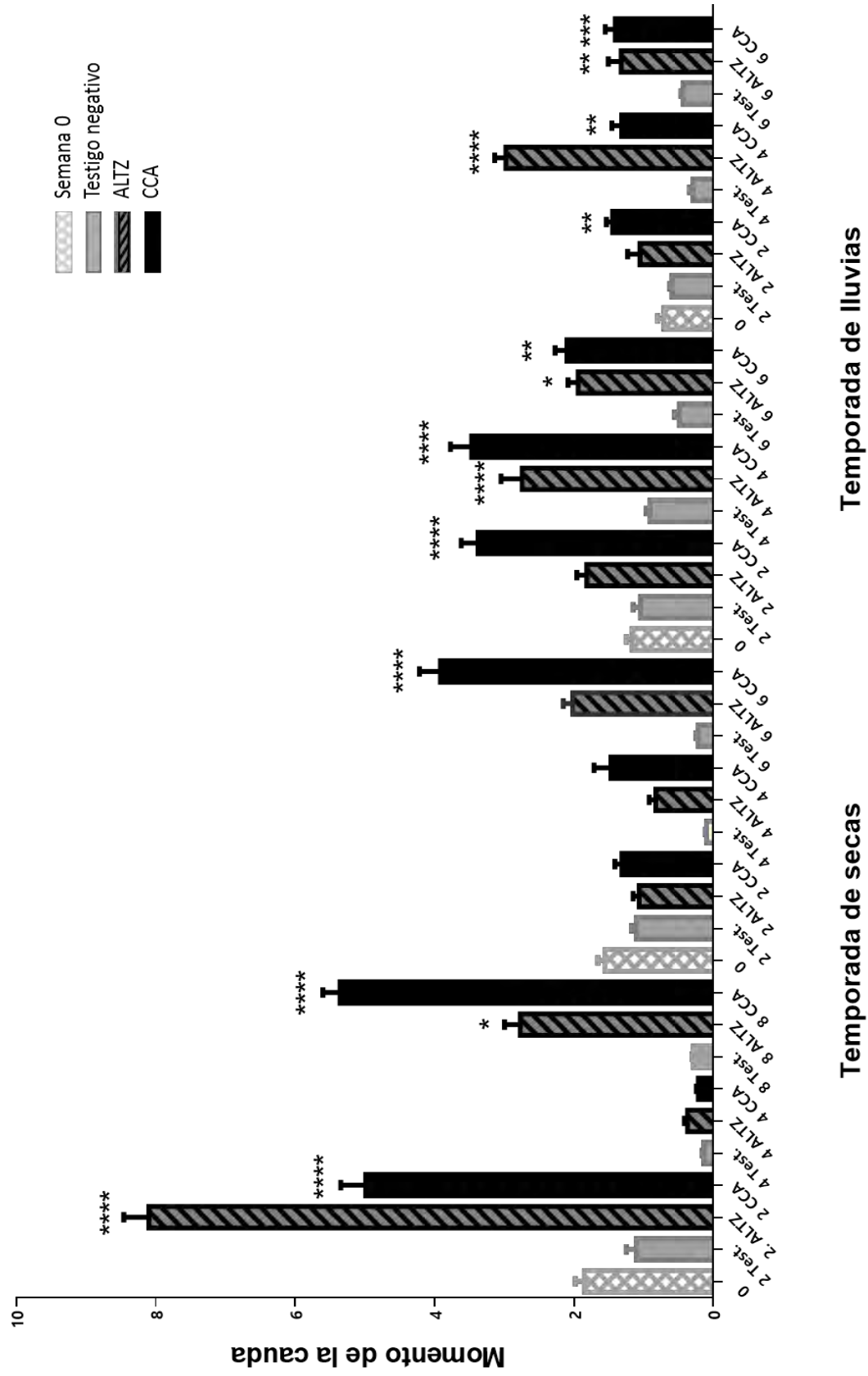


Figura 16. Promedios del momento de la cauda de *Senecio roseus* durante la temporada de secas y de lluvias 2016.

Gnaphalium lavandulifolium

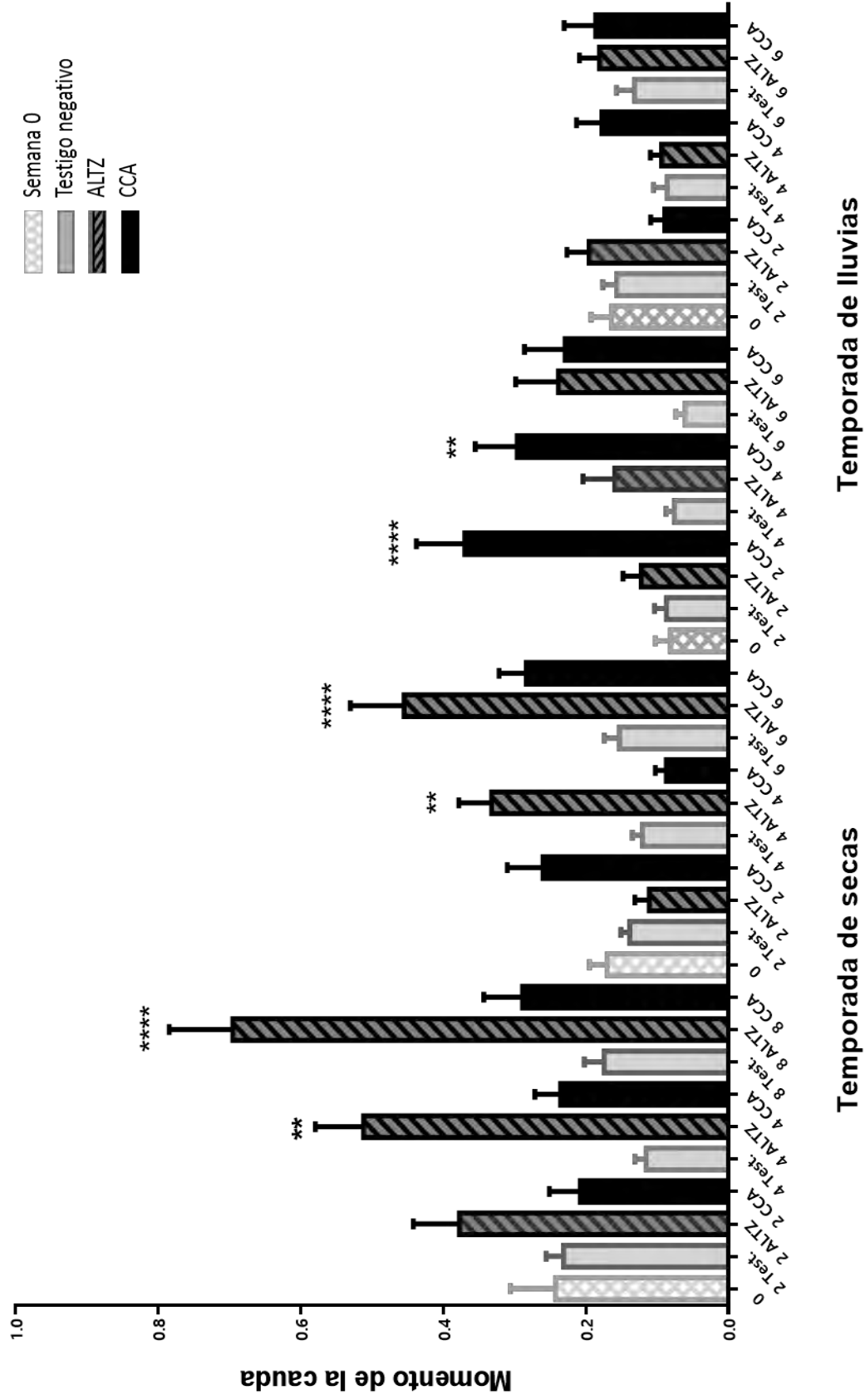


Figura 17. Promedios del momento de la cauda de *Gnaphalium lavandulifolium* durante la temporada de secas y de lluvias 2016.

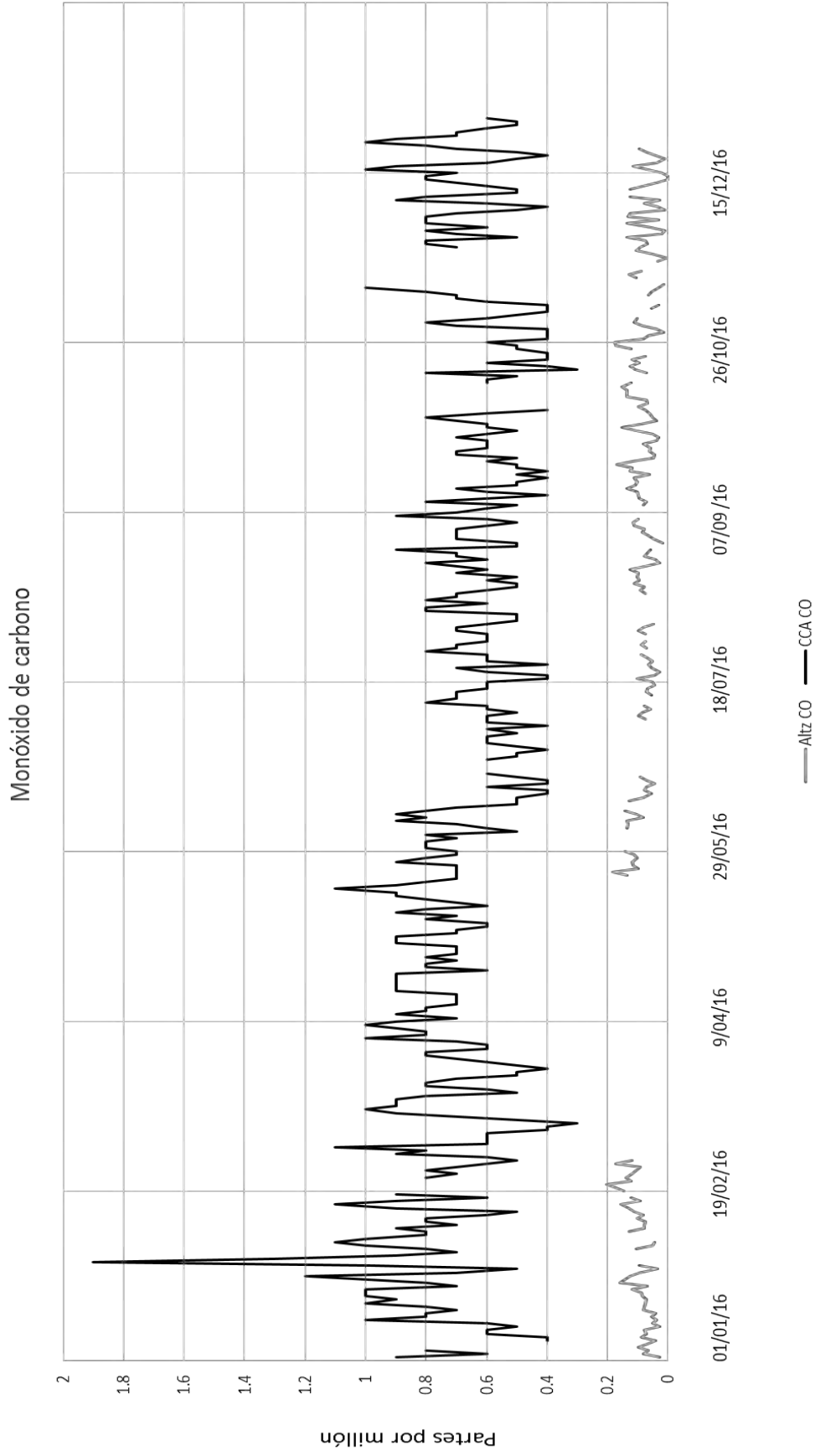


Figura 18. Comportamiento espacial y temporal del CO en Altzomoni y en el Centro de Ciencias de la Atmósfera durante 2016 (Tomado de la Dirección de Monitoreo Atmosférico de la CDMX).

Dióxido de nitrógeno

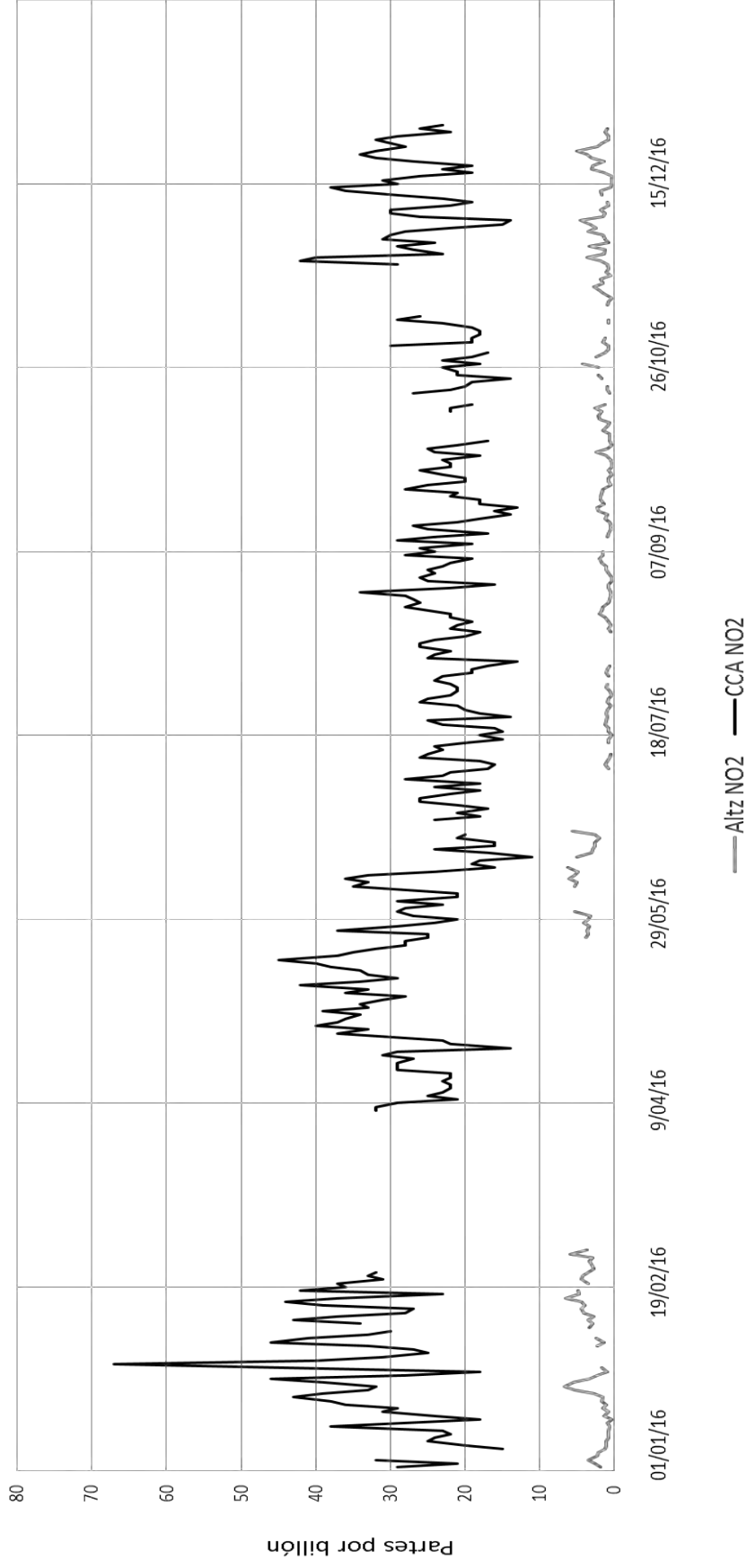


Figura 19. Comportamiento espacial y temporal del NO₂ en Alzomoni y en el Centro de Ciencias de la Atmósfera durante 2016 (Tomado de la Dirección de Monitoreo Atmosférico de la CDMX).

Monóxido de nitrógeno

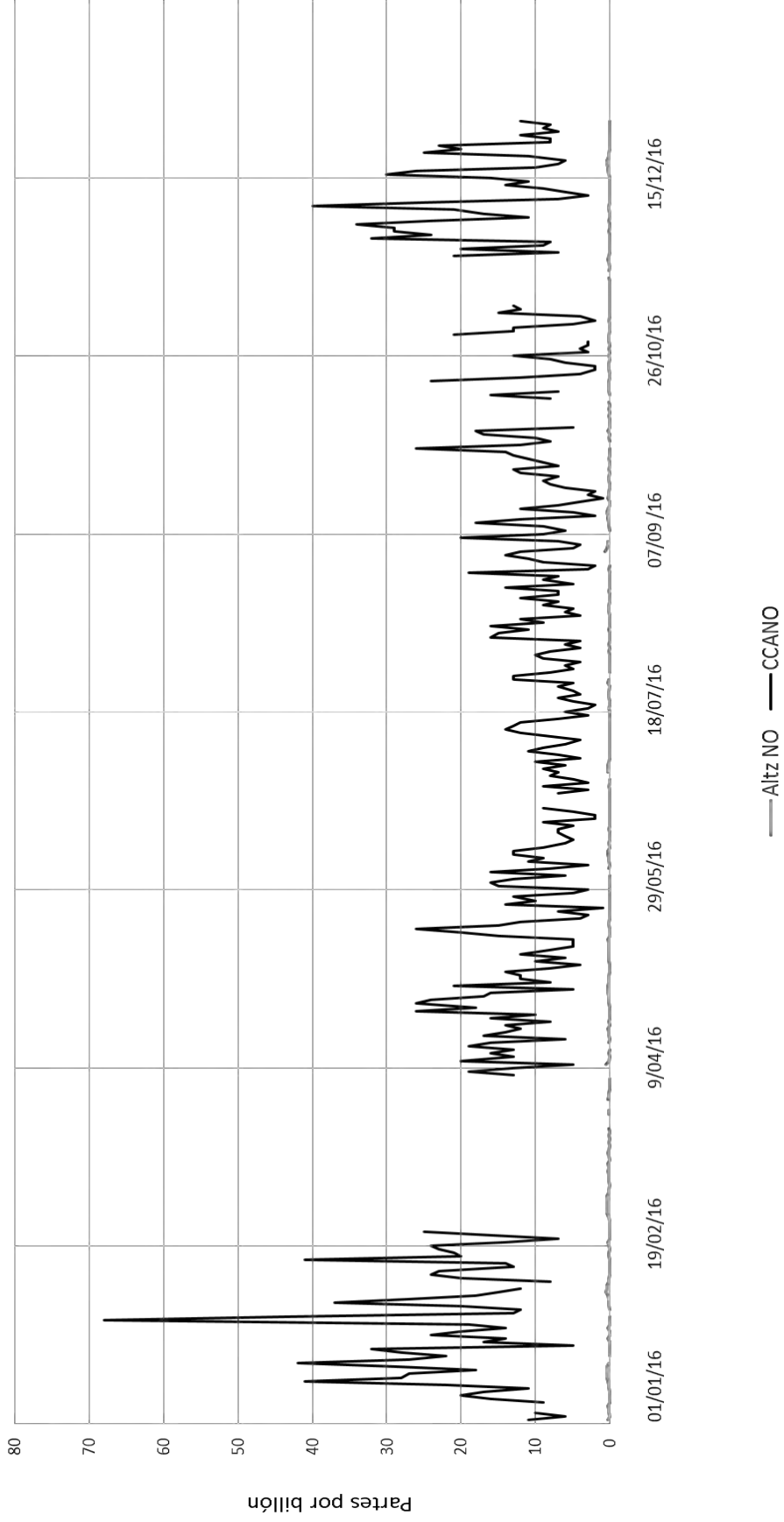


Figura 20. Comportamiento espacial y temporal del NO en Altzomoni y en el Centro de Ciencias de la Atmósfera durante 2016 (Tomado de la Dirección de Monitoreo Atmosférico de la CDMX).

Óxidos de nitrógeno

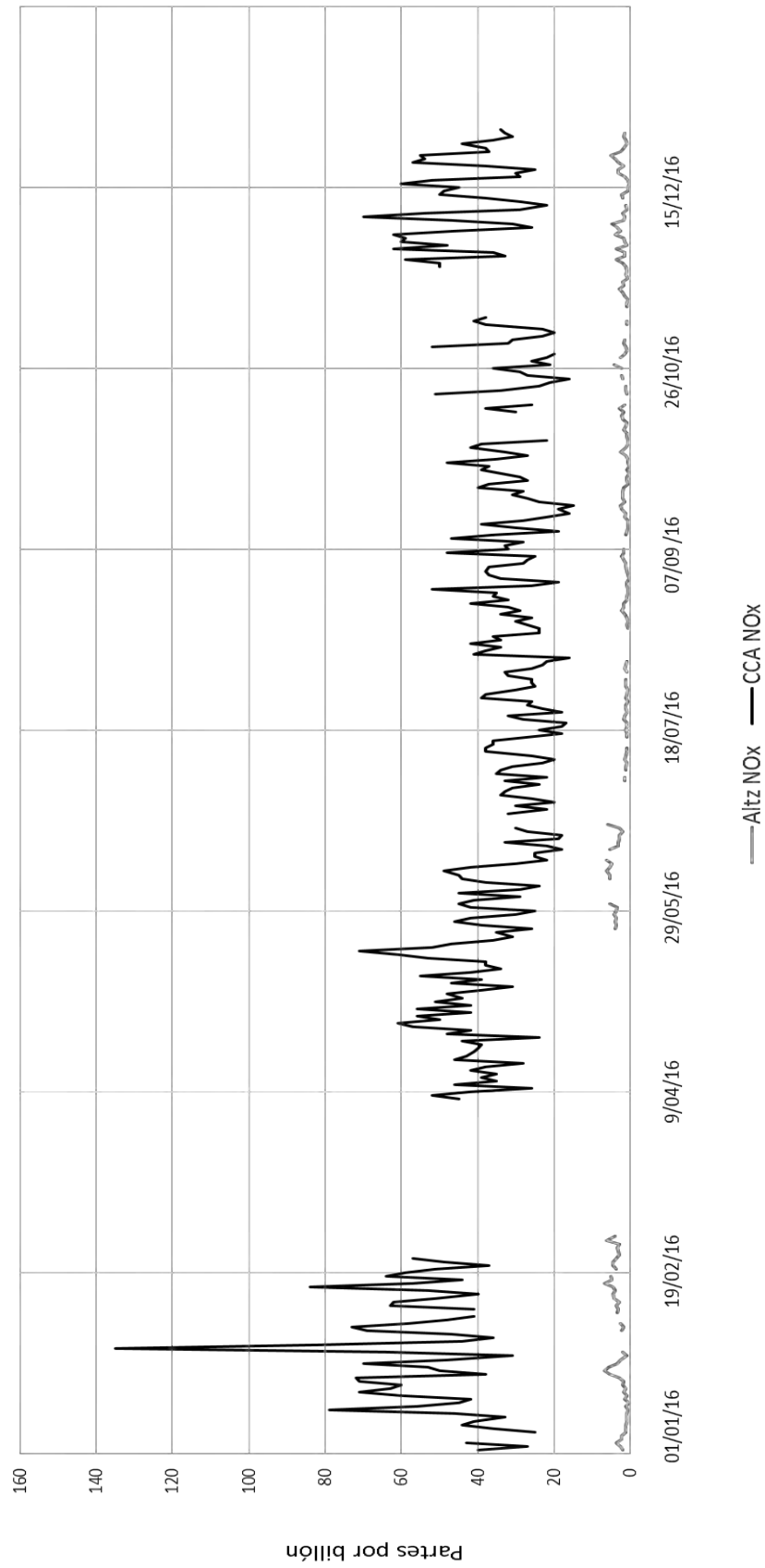


Figura 21. Comportamiento espacial y temporal del NO_x en Altzomoni y en el Centro de Ciencias de la Atmósfera durante 2016 (Tomado de la Dirección de Monitoreo Atmosférico de la CDMX).

Ozono

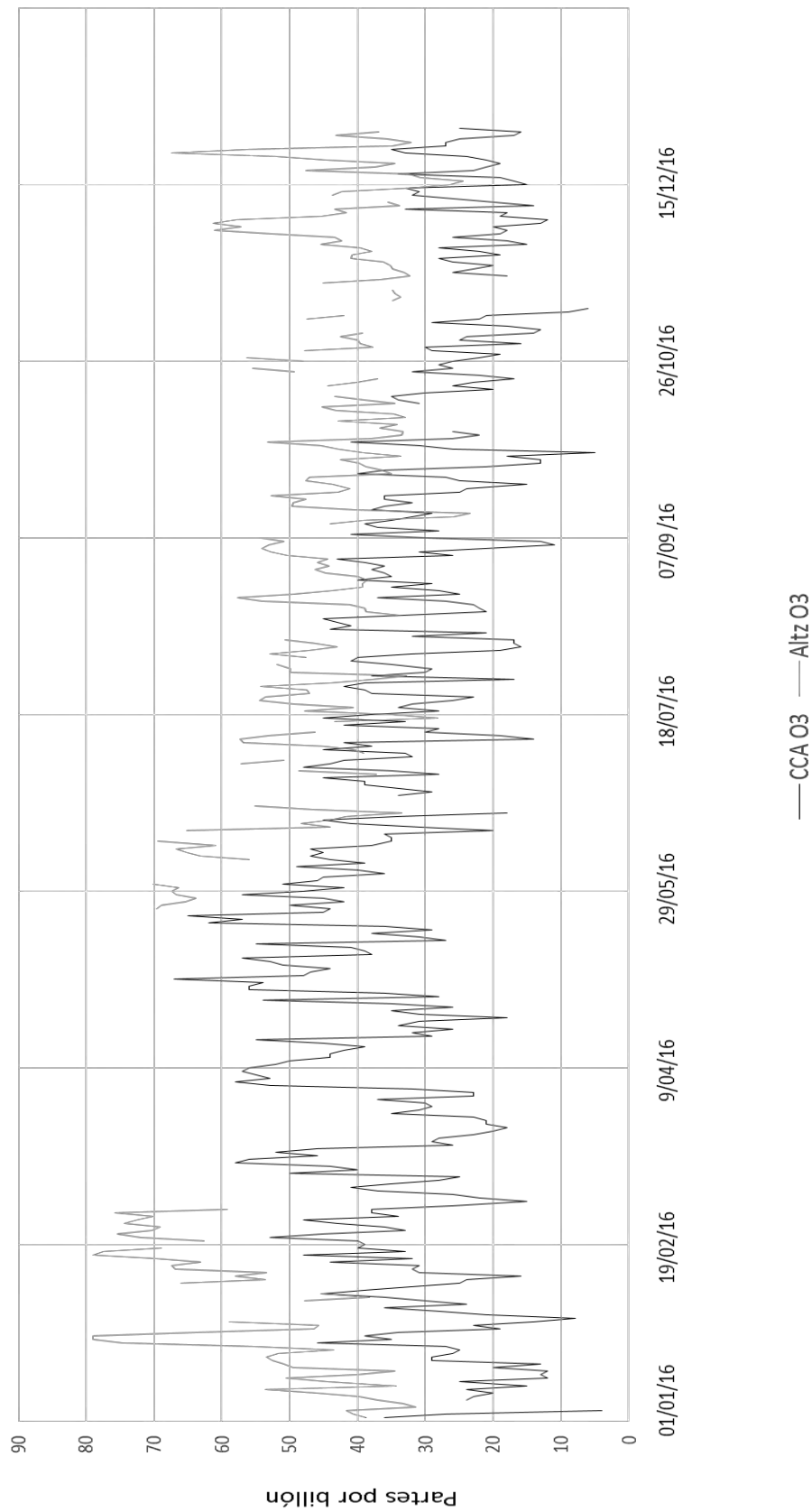


Figura 22. Comportamiento espacial y temporal del O_3 en Altzomoni y en el Centro de Ciencias de la Atmósfera durante 2016 (Tomado de la Dirección de Monitoreo Atmosférico de la CDMX).

Dióxido de azufre

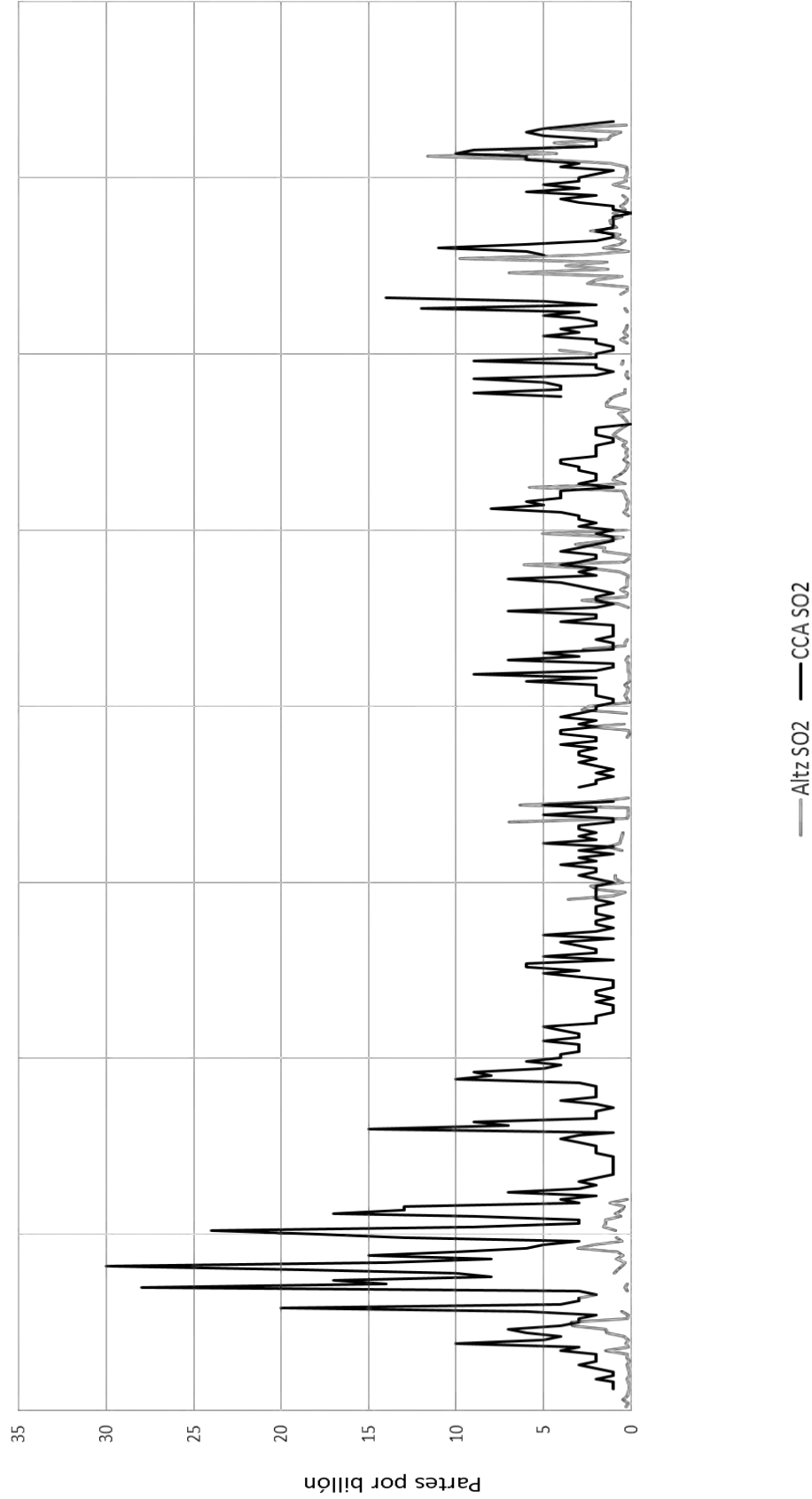


Figura 23. Comportamiento espacial y temporal del SO₂ en Altzomoni y en el Centro de Ciencias de la Atmosf erurante 2016 (Tomado de la Direcci n de Monitoreo Atmosf erico de la CDMX).

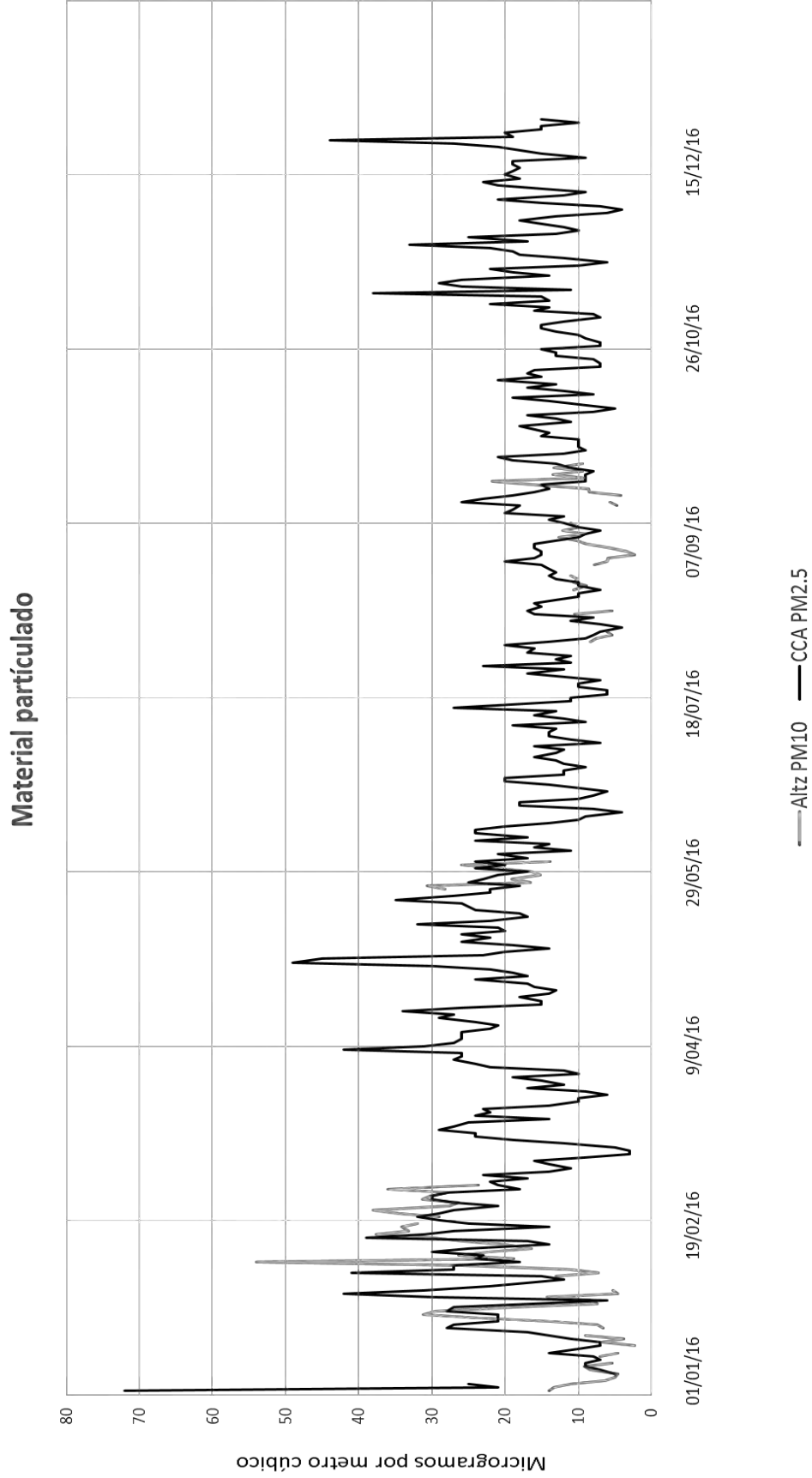


Figura 24. Comportamiento espacial y temporal del material particulado en Altzomoni y en el Centro de Ciencias de la Atmósfera durante 2016 (Tomado de la Dirección de Monitoreo Atmosférico de la CDMX).

Contaminantes atmosféricos en el Centro de Ciencias de la Atmósfera,

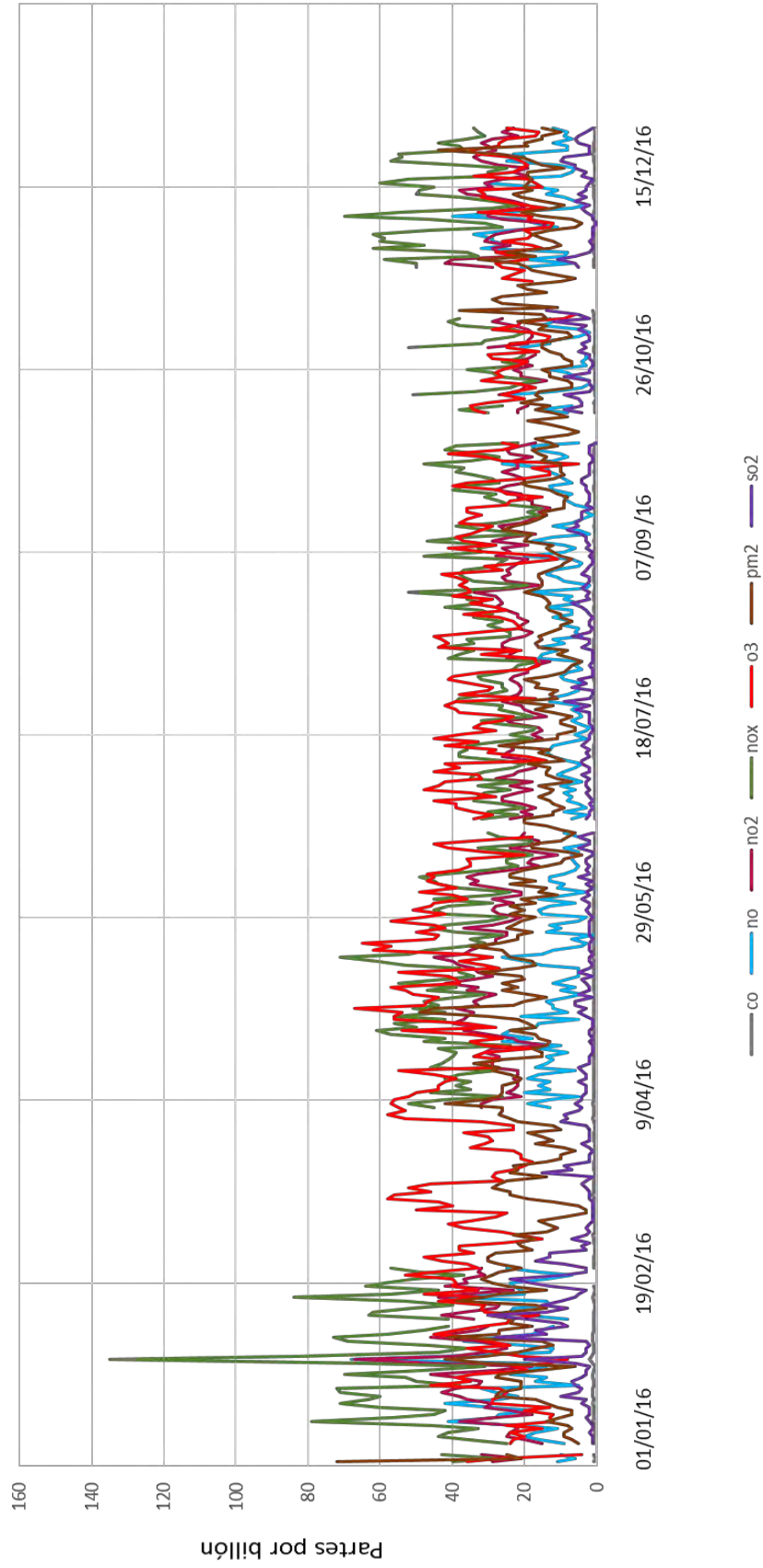


Figura 25. Contaminantes atmosféricos presentes en el Centro de Ciencias de la Atmósfera durante 2016 (Tomado de la Dirección de Monitoreo Atmosférico de la CDMX).

Contaminantes atmosféricos en Altzomoni.

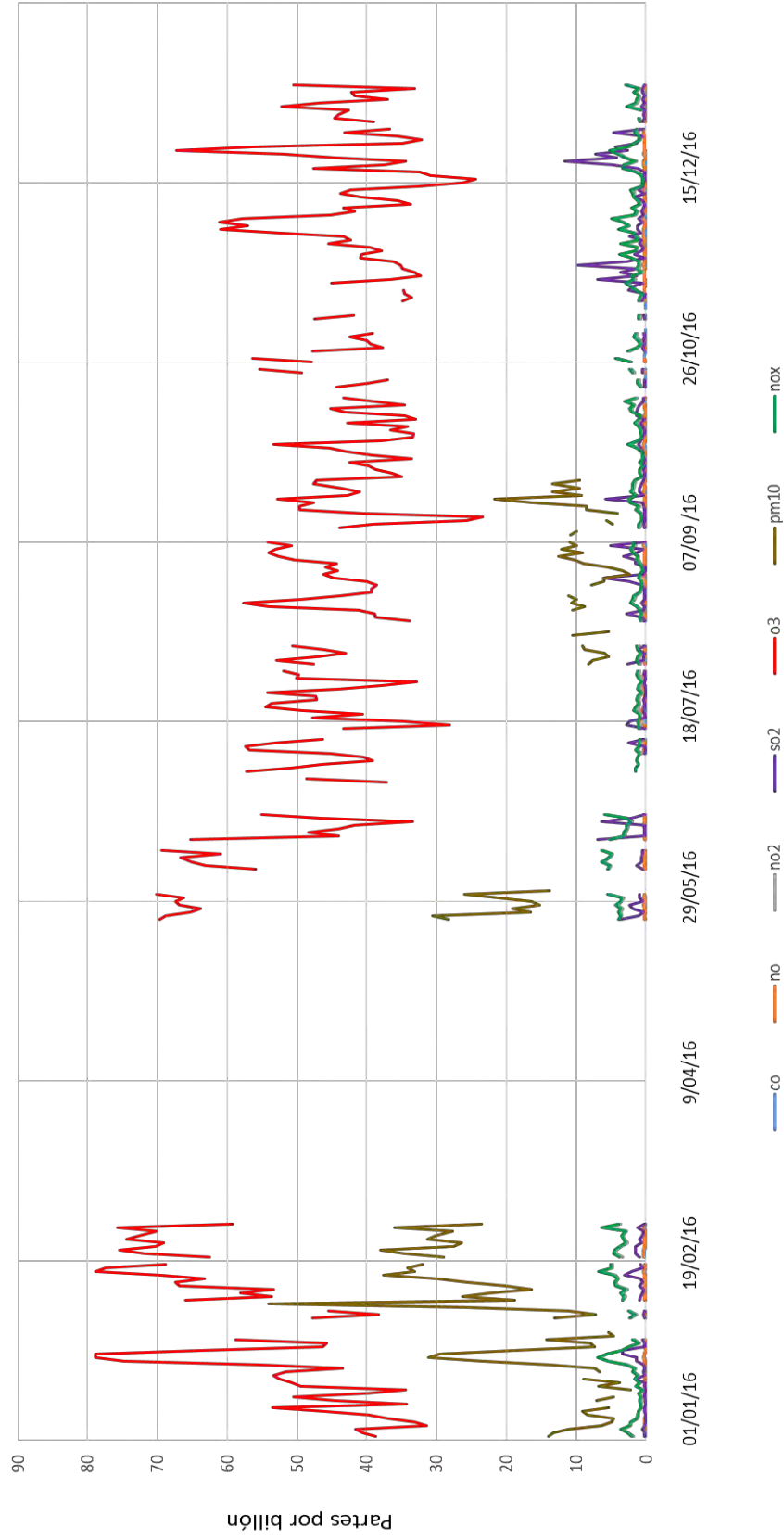


Figura 26. Contaminantes atmosféricos presentes en Altzomoni durante 2016 (Tomado de la Dirección de Monitoreo Atmosférico de la CDMX).